VLAAMSE MILIEUMAATSCHAPPIJ

inbo
Instituut voor natuur- en bosonderzoek

Ecologische en ecotoxicologische betekenis van verontreinigende stoffen gemeten in paling







Studie uitgevoerd in opdracht van MIRA, Milieurapport Vlaanderen

Onderzoeksrapport

MIRA/2007/05, november 2007
INBO/R/2007/40

Dit rapport verschijnt in de reeks MIRA Ondersteunend Onderzoek van de Vlaamse Milieumaatschappij. Deze reeks bevat resultaten van onderzoek gericht op de wetenschappelijke onderbouwing van het Milieurapport Vlaanderen.

Dit rapport is ook beschikbaar via www.milieurapport.be

Contactadres:

Vlaamse Milieumaatschappij
Milieurapportering (MIRA)
Van Benedenlaan 34
2800 Mechelen
tel. 015 45 14 66
mira@vmm.be

Wijze van citeren:

Geeraerts, C., G. Goemans, P. Quataert & C. Belpaire (2007) Ecologische en ecotoxicologische betekenis van verontreinigende stoffen in paling. Studie uitgevoerd in opdracht van de Vlaamse Milieumaatschappij, MIRA, MIRA/2007/05, INBO/R/2007/40. Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek. p. 207.

Ecologische en ecotoxicologische betekenis van verontreinigende stoffen gemeten in paling

Caroline Geeraerts, Geert Goemans, Paul Quataert & Claude Belpaire

Dankwoord

Dit onderzoek werd uitgevoerd in opdracht van de Vlaamse Milieumaatschappij, MIRA.

Wij danken in het bijzonder:

- Bob Peeters van DVP MIRA - Afdeling Meetnetten & Onderzoek - Vlaamse Milieumaatschappij
- Lieven Bervoets van de Universiteit Antwerpen, Departement Biologie, Ecofysiologie, Biochemie en Toxicologie
- Gregory Maes van de Katholieke Universiteit Leuven, Laboratorium van Aquatische Ecologie
- Kristof Vlietinck van het Agentschap voor Natuur- en Bos

voor het begeleiden van de onderzoeksopdracht via de stuurgroep en voor de professionele, vlotte en aangename samenwerking.

- Pieter Verschelde voor ondersteuning bij de statistische verwerking.

Dankwoord

Inhoudsopgave **i**

Lijst met figuren **v**

Lijst met tabellen **vii**

Lijst met gebruikte afkortingen **ix**

Begrippenlijst **xiii**

Woord vooraf

Nederlands abstract
English abstract

Inleiding 1

DEEL I LITERATUURSTUDIE

I. Overzicht van de geanalyseerde stoffen 7
I.1. Polychloorbifenylen (PCB's) 7
I.1.1. Chemische structuur 7
I.1.2. Fysische eigenschappen 7
I.1.3. Toepassingen 8
I.1.4. Beleid 8
I.2. Pesticiden 9
I.2.1. Chemische structuur 9
I.2.2. Fysische eigenschappen 9
I.2.3. Toepassingen 10
I.2.4. Beleid 10
I.3. Zware metalen 12
I.3.1. Chemische structuur 12
I.3.2. Fysische eigenschappen 12
I.3.3. Toepassingen 12
A. Koper (Cu) 13
B. Zink (Zn) 13
C. Cadmium (Cd) 13
D. Kwik (Hg) 13
E. Arseen (Ar) 14
F. Chroom (Cr) 14
G. Lood (Pb) 14
H. Nikkel (Ni) 14
I.3.4. Beleid 15
I.4. Gebromeerde vlamvertragers 15

I.4.1. Chemische structuur 15
I.4.2. Fysische eigenschappen 16
I.4.3. Toepassingen 17
I.4.4. Beleid 17
I.5. Vluchtige organische componenten (VOC) 18
I.5.1. Chemische structuur 18
I.5.2. Fysische eigenschappen 18
I.5.3. Toepassingen 18
I.5.4. Beleid 19
I.6. Perfluoroctaansulfonaat (PFOS) 19
I.6.1. Chemische structuur 19
I.6.2. Fysische structuur 19
I.6.3. Toepassingen 20
I.6.4. Beleid 20
II. Europese paling als bio-indicator 21
II.1. Europese paling 21
II.2. Europese paling als bio-indicator 22
III. Het Vlaamse palingpolluentenmeetnet 29
III.1. Polychloorbifenylen (PCB's) 31
III.2. Pesticiden 33
III.3. Zware metalen 36
III.4. Gebromeerde vlamvertragers 38
III.5. Vluchtige organische componenten 39
III.6. Endocriene verstoorders in paling 42
III.7. Perfluorverbindingen 44
III.8. Polluenten en genstructuren 44
III.9. Paling en volksgezondheid 45
III.10. Trends in palingcontaminatie 46
III.11. Conclusies 46
IV. De ecotoxicologische effecten van verontreinigende stoffen 49
IV.1. Polychloorbifenylen (PCB's) 49
IV.1.1. Potentiële effecten van PCB's op paling 50
A. Enzymrespons 51
B. Endocrien systeem 52
C. Immuunrespons 53
D. Verzilvering 54
E. Zwemcapaciteiten 56
F. Reproductie 57
IV.1.2. Potentiële effecten van PCB's op palingpredatoren 61
IV.2. Potentiële effecten van pesticiden op paling 66
IV.2.1. Pesticiden en paling 67
IV.2.2. Pesticiden en palingpredatoren 70
IV.3. Potentiële effecten van zware metalen op paling 71
IV.3.1. Zware metalen in paling 72
A. Lood 72
B. Kwik 73
C. Cadmium 74
D. Zink 77

E. Selenium 78
F. Aluminium 80
G. Koper 80
H. Arseen 82
I. Chroom 82
J. Nikkel 84
IV.3.2. De invloed van zware metalen op de genetische variabiliteit 84
IV.3.3. Zware metalen in palingpredatoren 84
IV.4. Potentiële effecten van gebromeerde vlamvertragers op paling 86
IV.5. Potentiële effecten van vluchtige organische componenten (VOC's) op paling 89
IV.6. Potentiële effecten van perfluoroctaansulfonaat (PFOS) op paling 89
IV.6.1. PFOS in palingpredatoren 91
IV.7. Potentiële effecten van endocriene verstoorders op paling 91
IV.7.1. Effecten van endocriene verstoorders op palingpredatoren 93
IV.8. Parasieten en verontreinigende stoffen 94

DEEL II STATISCHE ANALYSE VAN DE DATA VAN HET PALING POLLUENTENMEETNET

V. Materiaal en Methode 99
V.1. Het conceptueel model om de relatie tussen de conditie van paling en de lichaamsvracht te bepalen 99
V.1.1. Voorstelling van het conceptueel model 99
V.1.2. Het conceptueel model 99
V.1.3. Hoe de fitness (Y) beschrijven? 100
V.1.4. Hoe de vuilvracht (body burden) (X) beschrijven? 103
V.1.5. Hoe de invloed van externe factoren beschrijven? 105
V.2. De beschikbare data 106
V.3. Bespreking van de termen van het conceptuele model 107
V.4. Mixed models 108
VI. Resultaten en bespreking 111
VI.1. Verkennende analyse 111
VI.1.1. Principaal Component Analyse 111
VI.1.2. Invloed van de verschillende factoren op het vetgehalte 111
VI.2. Het basismodel 113
VI.2.1. Het model 113
VI.2.2. De ANOVA-tabel 113
VI.2.3. Discussie van de termen 114
VI.2.4. Het globale regressiemodel 115
VI.3. Het effect van de voornaamste PCB's samen 116
VI.3.1. Het model 116
VI.3.2. De ANOVA-tabel 116
VI.3.3. Het globale regressiemodel 117
VI.3.4. Discussie van de fixed effects 118
VI.3.5. De random effects (de variatie van de regressiecoëfficiënten) en de ruis 120
VI.3.6. Screening per locatie 121
VI.3.7. Vetpercentage versus conditiefactor 123
VI.4. Screening per polluent 124

VI.4.1. PCB’s *125*
VI.4.2. Pesticiden *127*
VI.4.3. Zware metalen *129*
VI.5. Discussie 131
VI.5.1. De beschikbare data *131*
VI.5.2. De termen uit het conceptueel model: omgevings- en drukfactoren *132*
VI.5.3. De fitness van paling *132*
VI.5.4. Het vetgehalte *133*
VI.5.5. De impact van contaminanten op het vetgehalte *133*
VI.6. Toetsing literatuurwaarden aan resultaten van het VPPM 134
VI.6.1. Grenswaarde van vetpercentage voor succesvolle migratie *134*
VI.6.2. TEQ waarden: effecten op embryo overleving en ontwikkeling *135*
VI.6.3. Teratogene effecten door de aanwezigheid van selenium *135*
VI.6.4. Vibriose door hoge concentraties aan koper *136*
VI.6.5. Effecten op predatoren van paling *136*

DEEL III SAMENVATTING EN TOEKOMSTPERSPECTIEVEN
VII. Samenvatting 137
VII.1. Verontreinigende stoffen in paling 137
VII.2. Ecologische en ecotoxicologische effecten van verontreinigende stoffen in paling 137
VII.3. Statistische analyse van de data van het Vlaamse palingpolluentenmeetnet 138
VIII. Toekomstperspectieven 141
VIII.1. Paling als bio-indicator 141
VIII.2. Ecotoxicologische impact op de soort 142

Referentielijst **149**

Bijlage 1 **195**
Bijlage 2 **202**

Lijst met figuren

Figuur 1.1:	De polychloorbifenylmolecule .	7
Figuur 1.2:	De moleculaire structuur van de meest voorkomende persistente organische polluent: DDT (dichloordifenyltrichloorethaan).	9
Figuur 1.3:	De chemische structuur van links naar rechts PBDE, PBB, HBCD en TBBP-A	16
Figuur 1.4:	De chemische structuur van PFOS	19
Figuur 3.1:	Overzicht van de staalnamepunten van het palingpolluentenmeetnet	31
Figuur 3.2:	PCB-concentraties (versgewichtsbasis) in paling uit Vlaamse oppervlaktewaters (Vlaanderen, 1995-2002).	32
Figuur 3.3:	Concentratie van 4 bestrijdingsmiddelen in het spierweefsel van paling: meetplaatsen ingedeeld in afwijkingsklassen t.o.v. de referentiewaarde.	34
Figuur 3.4:	Ruimtelijke verdeling van de gemiddelde lichaamslasten van paling van PCB's, lindaan, HCH, dieldrin, ∑DDT's, HCB en transnonachloor (Tnona) in de verschillende rivierbekken in Vlaanderen.	35
Figuur 3.5:	Ruimtelijke verdeling van de gemiddelde lichaamslasten van paling voor vier zware metalen: Ar, Cd, Hg en Pb voor de verschillende rivierbekkens in Vlaanderen.	38
Figuur 3.6:	Box en whisker plot van de aangetroffen VOC's voor alle palingstalen.	40
Figuur 3.7:	Concentraties 1,2-dibroom-3-chloorpropaan in palingen op 20 plaatsen in Vlaanderen	41
Figuur 3.8:	Concentraties BTEX-componenten in palingen op 20 plaatsen in Vlaanderen.	42
Figuur 3.9:	Relatieve plasma vitellogenine (VTG) in paling van 20 Vlaamse locaties met standaardafwijking op het gemiddelde, ook het aantal vissen is weergegeven.	43
Figuur 4.1:	a) Gezonde Europese palingembryo op 30-35 uren postfertilisatie met een hartslag en dooierzak met een grote vetdruppel, b) een ouder embryo van een ongezonde groep in hetzelfde ontwikkelingsstadium met een dooierzak oedeem, vervormd hoofd en afwezigheid van een hartslag. De schaal is 100 µm. c) een negatieve correlatie tussen de totale TEQ-waarden (ng/kg gonaden) en de overlevingstijd van het embryo (uren na de bevruchting) van de bevruchte eitjes van acht met hormonen geïnduceerde palingen.	58
Figuur 4.2:	PCB TCDD-TEQ-waarden in eitjes en spieren bij de controlegroep en bij CPE (carp pituitary extract) behandelde vrouwelijke palingen afkomstig van het Grevelingenmeer (Nederland) en de Loire (Frankrijk).	59
Figuur 4.3:	Een sterk negatieve correlatie tussen PCB TCDD-TEQ-waarden en het stoppen van de embryologische ontwikkeling.	59
Figuur 4.4:	De geschatte productie en emissie van PCB's in de OESO-landen.	61
Figuur 4.5:	De 'giftigheid van het sediment', uitgedrukt als het toxisch equivalent van PCB's, uitgezet tegen de gemodelleerde habitatgeschiktheid, uitgedrukt als 'relatieve nestgrootte'	65
Figuur 4.6:	Foto van een geïnduceerd ziektebeeld ter hoogte van een RWZI op het Boudewijnkanaal.	77

Figuur 4.7: In de grote Nederlands rivieren lopen visetende dieren matige risico's op gezondheidseffecten. 86

Figuur 5.1: Voorstelling van het conceptueel model met de verschillende variabelen die een invloed hebben op de conditie en de lichaamsvracht. 100
Figuur 5.2: De boxplots van het vetpercentage van 1994 tot 2005 in Vlaamse gele paling. 101
Figuur 5.3: Voor het opstellen van de CF zijn lengte en gewicht t.o.v. elkaar geplot en gemodelleerd in de log-schaal. 102
Figuur 5.4: (a) Relatie tussen de vetconcentratie van individuele palingen en de PCB-concentratie uitgedrukt op vetbasis (b) Relatie tussen de vetconcentratie van individuele palingen en de PCB-concentratie uitgedrukt op versgewicht. 104
Figuur 5.5: De relatie tussen vet (Percentage [%] en het getransformeerde vetpercentage (Hoektranfsormatie [%]). 108
Figuur 5.6: Locale factoren kunnen een invloed hebben op de relatie tussen vuilvracht en fitness. Uitgedrukt onder de vorm van een lineaire regressie krijgen we een veelheid aan regressierechten Hier weergegeven voor een beperkt aantal locaties. 109

Figuur 6.1: PCA-analyse voor de dataset die per lengteklasse opgesplitst wordt. 111
Figuur 6.2: Boxplot van het hoekgetransformeerde vetpercentage (VpctA) versus (a) de lengte onderverdeeld in lengteklassen van 4 cm, (b) de periode en (c) het waterlooptype. 112
Figuur 6.3: Grafische voorstelling van het basismodel waarbij het effect van lengte, type (stilstaande wateren (blauw), kanalen (groen), rivieren (oranje) en polderwaterlopen (zwart)) en periode op het vetpercentage afgebeeld wordt. 116
Figuur 6.4: De invloed van verschillende factoren op het vetpercentage (a) van een paling van 50 cm en (b) op de CBsom. 119
Figuur 6.5 De simulatie toont de verschillende lijnen (a) per locatie en (b) de ruis van individuele palingen en (c) de verschillen in het bereik van de vuilvracht. 120
Figuur 6.6: Het gecombineerde effect van het bereik van vuilvracht en het aantal palingen. De kans op een positieve helling vermindert. 122
Figuur 6.7: Vergelijken van modellen voor het vetgehalte en de conditiefactor beide zowel op vet- als op versbasis uitgedrukt. 124
Figuur 6.8: De concentraties in de log-schaal voor de verschillende elementen. 125
Figuur 6.9: (a) PCB28 heeft geen invloed op het vetpercentage; (b) PCB156 vertoont een significant dalende trend met toenemend vetpercentage. 126
Figuur 6.10: De helling van de regressierechte voor de verschillende PCB’s. 127
Figuur 6.11: (a) Er is een licht dalende trend voor *pp*’-DDE; (b) Voor TNONA schommelt het vetpercentage. 128
Figuur 6.12: Er is bijna geen relatie zichtbaar voor de pesticiden uitgezonderd voor de DDT-derivaten en TNONA. 129
Figuur 6.13: De voorspellende kracht van Cr op vet is klein. 130
Figuur 6.14: Er is geen effect zichtbaar voor zware metalen. 131
Figuur 6.15: Concentraties aan dioxines, furanen en dioxineachtige PCB’s in spierweefsel van paling (Vlaanderen 2001-2005). 135

Lijst met tabellen

Tabel 1.1:	TCDD equivalentiefactoren (TEF) voor toxische PCB's	8
Tabel 1.2:	Overzicht van de gehanteerde normen en RfD-waarden (orale referentie dosis) voor een aantal pesticiden	10
Tabel 1.3:	Overzicht van de ingang van het verbod op een aantal pesticiden.	11
Tabel 1.4:	Overzicht van de geldende normen in België en RfD-waarden (orale referentie dosis) voor de beschouwde zware metalen.	15
Tabel 2.1:	Vereisten voor een adequate bio-indicator voor het monitoren van verontreinigende stoffen in aquatische omgevingen.	21
Tabel 3.1:	Geanalyseerde stoffen en analyselaboratoria.	30
Tabel 3.2:	De lichaamslast (ng g-1 versgewicht) van de verschillende PCB's die in spierweefsel van paling uit Vlaamse oppervlaktewateren aangetroffen werd.	32
Tabel 3.3:	De lichaamslast (ng g-1 versgewicht) van de verschillende pesticiden die in spierweefsel van paling uit Vlaamse oppervlaktewateren aangetroffen werd.	33
Tabel 3.4:	De lichaamslast (ng g-1 versgewicht) van de verschillende zware metalen die in spierweefsel van paling uit Vlaamse oppervlaktewateren aangetroffen werd.	37
Tabel 4.1:	PCB-geïnduceerde mono-oxygenase activiteit bij verschillende vissoorten.	51
Tabel 4.2:	Voorbeelden van gerapporteerde gemiddelde concentraties of concentratie ranges van een aantal polluenten of polluentfamilies in weefsel van gele aling tot 2002.	55
Tabel 4.3:	Voor elke TEQ-groep (ng g-1 vetgewicht) werd het aantal otters met een ziekte (virale infectie, bacteriële ziekte, pathologische afwijkingen en/of endoparasieten), aantal ziekten per zieke otter, percentage otters met een ziekte, conditie index (CI), somatische index van de lever (LSI) en gemiddeld verschil (%) tussen de conditie index en de somatische index van de lever vergeleken met gezonde otters.	63
Tabel 4.4:	Drempelwaarden voor de biologische effecten van ΣPCB, ΣDDT en de TEQ-waarden voor dioxineachtige chemicaliën voor vissen, zeevogels en mariene zoogdieren.	65
Tabel 4.5	Opstelling van het 64Cu experiment.	81
Tabel 4.6:	PFOS-concentraties in visweefsel.	89
Tabel 6.1:	Coëfficiënten van de modellen op basis van het vetgehalte en op basis van de conditiefactor als maat voor fitness, en gebaseerd op vuilvrachten zowel op vet- als op versbasis.	123
Tabel 6.2:	Wildlife values zoals berekend voor otter, nerts en ijsvogel door Lazorchak *et al.*, 2003.	136

Lijst met afkortingen

2,4-D	2,4-dichlorophenoxyacetic acid
2,4,5-T	2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid
ABS	Acetonitrile butadiene styreen
AChE	acetylcholinesterase
ACTH	adrenocorticoïdhormoon
AhR	arylkoolwaterstof receptor
ALA-D	alanine
ALT	alanineaminotransferase
AMAP	Artic Monitoring and Assessment Programme
As	Arseen
atm	atmosfeer
BaP	benzo[a]pyreen
BFR	brominated flame retardants
BKPME	bleached kraft pulp mill effluent
BNF	beta-naftoflavoon
Br	broom
BTEX	benzeen, tolueen, ethylbenzeen, xyleen
BW of bw	body weight (versgewicht)
BZV	biochemisch zuurstofverbruik
ca.	circa
CA	koolstof anhydrase
Ca_2C	dicalciumkoolstof
cAMP	secundaire boodschapper
CAT	katalase
CB	chloorbifenylen
Cd	cadmium
$CdCl_2$	cadmiumchloride
Cf	confer
CF	conditiefactor
Ch	chroom
ChA	cholinesterase
CHC	gechloreerde koolwaterstoffen
CI	conditie index
Cl	chloor
cm	centimeter
CO	koolstofmonoxide
CO_2	koolstofdioxide
CODA	Centrum voor Onderzoek in Diergeneeskunde en Agrochemie
CPE	carp pituitary extract
Cu	koper
kPa	kilopascal
L.	Linneaus (1778)
L	Lengte
l	liter
LC50	letale concentratie in een stof die 50% van de proefdieren doodt binnen een bepaald tijdsinterval
LOEL	lowest observable effect level
LPO	vet peroxidatie
LRTAP	long-range transboundary air pollution
LSI	somatische index van de lever
lw	lipid weight (vetgewicht)
M	molair
µg	microgram
µmol	micromol
MCPA	methyl chlorophenoxy acetic acid
MFO	mixed function oxygenase
mg	milligram
min.	minuten
ml	milliliter
mM	millimolair
MXC	methoxychloor
N	aantal
N	stikstof
Na	natrium
NaC	natriumkoolstof
NaCl	natriumchloride
ng	nanogram
Ni	nikkel
NH_2	sulfonamiden
NOEC	no observed effect concentration
NOEL	no observable effect level
OcBDE	octabroombifenylether
OCP	organochloor pesticiden
OESO	Organisatie voor Economische Samenwerking en Ontwikkeling
OH	vrije zuren
O^-M^+	metaalzouten
OSPAR	Oslo/Paris Convention for the Protection of the Marine Environment of the North-East Atlantic
PAK	polycyclische aromatische koolwaterstoffen
Pb	lood
PBB	polybroombifenylen
PBDE	polygebromeerde difenylethers

DeBDE	decabroombifenylether
decaBDE	decabroombifenylether
p,p’-DDD	dichloordifenyldichloorethaan
DDE	dichloordifenyldichloorethyleen
DDT	dichloordifenyltrichloorethaan
DE	difenylether
DHAA	dihydroabiëtine zuur
dm^3	kubieke decimeter
DNA	deoxyribonucleic acid
DVZ	Departement voor Zeevisserij
E2	estradiol
EG	Europese Gemeenschap
EC	Europese Commissie
ENA	erythrocytic nuclear abnormalities
EROD	ethoxyresorufin-O-deëthylase
EPA	American Environmental Protection Agency
EPDM	Ehtyleen propyleen dieenmonomeer
EPER	European Pollutant Emission Register
etc.	Et cetera
EU	Europese Unie
ev.	Eventueel
EVA	Ethyleen vinyl-acetaat
EVEX	Eel Virus European X
FAVV	Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen
G	Gram
G	Gewicht
γ-HCH	lindaan
GLEMEDS	great lake embryo mortality, edema and deformities syndrome
GPX	glutation peroxidatie
GSH	totaal gereduceerde glutation
GSI	gonado-somatische index
GST	glutation S-transferase
GtH	gonadotrofine hormoon
HBCD	hexabromocyclododecaan
HCB	hexachlorobenzeen
HCH	hexachlorocyclohexaan
HEOD	dieldrin
Hg	kwik
$HgCl_2$	kwikchloride
HIPS	high-impact polystyreen
HPI-as	hypothalamus hypofyse bijnier-as
IBI-score	Index voor Biotische Integriteit
IBW	Instituut voor Bosbouw en Wildbeheer
PBT	polybutyleen tereftalaat
PCB	polychloorbifenylen
PCDD	polychloordibenzodioxinen.
PCDF	Polychloordibenzofuranen
PCP	Pentachloorfenol
PE	polyethyleen
pentaBDE	pentabroombifenylether
PFC	perfluor chemicaliën
PFOS	perfluoroctaansulfonaat
pg	picogram
POP	persistente organische polluenten
PP	polypropyleen
ppm	parts per million
RfD	orale referentie dosis
RGS	regeling van de G-proteïnen
RWZI	rioolwaterzuiveringsinstallatie
SD	standaard deviatie
Se	selenium
SEM	swelling of primary and secondary lamellae
SNUR	Significant New Use Rule
STECF	Scientific, Technical and Economic Committee for Fisheries
Si	Silicium
ΣDDT’s	Som DDT’s
ΣPCB’s	Som PCB’s
T_3	3,5,3’-triiodo-L-thyronine
T_4	thyroxine
TBBP-A	tetrabromobisfenol-A
TCDD	tetrachloordibenzo-*p*-dioxine
TDE	tetraëthyl dithiopyrofosfaat
TEF	toxische equivalentie factoren
TEQ	toxische equivalent
thv	ter hoogte van
TNONA	transnonachloor
t-PAK	totale som aan PAK’s
t-PCB	totale som aan PCB’s
TSA	thyroïd stimulerend hormoon
UK	United Kingdom
UPE	Onverzadigde polyesters
USA	United States of America
VK	Verenigd Koninkrijk
UV-stralen	Ultraviolet stralen
VMM	Vlaamse Milieumaatschappij
VOC	vluchtige organische componenten
VS	Verenigde Staten
VTG	Vitellogenine
WFD	Water Framework Directive
WV	Wildlife value

INBO	Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek
In prep.	In preparation
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
K	kalium
KB	Koninklijk Besluit
kg	kilogram
km	kilometer
ww	Wet weight
X	sulfonylhaliden
zgn.	zogenaamd
Zn	zink
µg/kg/dag	microgram per kilogram per dag

Begrippenlijst

Aberraties	afwijking
Acetylcholinesterase	regelt de vrijstelling van de hoeveelheid neurotransmitter acetylcholine in het zenuwstelsel. De werkwijze van malathion, parathion en andere veel gebruikte organofosfaat pesticiden inhiberen dit enzym.
ALA-D	amino levulinic zuur katalyseert de synthese van één molecule porfobilinogeen (PGB) uit twee moleculen ALA. PGB is een precursor van hemoglobine, katalase, verschillende cytochromen en chlorofyl A. ALA-D komt in de meeste aerobe bacteriën, planten en dieren voor.
Allelfrequentie	aantal allelen van een bepaald type dat in een populatie voorkomt, relatief ten opzichte van het totaal aantal allelen van het betreffende locus
Aneuploïdie	verlies van een chromosoom uit het genoom
Aneurysme	slagaderbreuk
Anomaliën	afwijking van een regel of wet, tegenstrijdigheid ermee
Antagonistische effecten	het verschijnsel dat twee effecten elkaars werking (ten dele) opheffen
Antropogeen	van menselijke oorsprong
Apoptosis	celdood
Artritis	ontsteking van de slijmbekleding van een gewrichtskapsel
Asfyxie	ademnood
ATPase	adenosine trifosfatase is een wijdverspreid enzym dat betrokken is bij het energievragende actieve transport van elektrolyten doorheen membranen. De pesticide DDT inhibeert het mitochondriaal ATPase van verschillende visweefsels. Hoewel verschillende typen ATPase ook geactiveerd kunnen worden als antwoord op deze toxicanten.
Bentisch	op of in de bodem levend
Bioaccumuleren	ook bekend als bioconcentratie, is het geleidelijk opstapelen van een specifieke substantie vanuit de leefomgeving in het lichaam van een levend organisme door de opname van verontreinigde lucht, water of voedsel, vanwege een langzaam metabolisme en uitscheiding.
Carcinogeen	kankerverwekkend
Cardiomyopathie	ziekte van de hartspier
Carnivoor	vleesetend dier
Chemiluminicentie	luminescentie (licht uitstraling) als gevolg van een chemische reactie
Chironomiden	dans- of vedermuggen
Cholestasis	verstoring of verstopping van de galafvoer
Clastogeen	DNA-beschadigend
Congeneer	varianten van een bepaalde stof met soortgelijke chemische structuur en meestal soortgelijke eigenschappen, maar soms grote verschillen in toxiciteit
Contaminant	verontreinigende stof
Corrosief	bijtend, invretend

Dampspanning	druk door een verzadigde damp uitgeoefend bij een bep. temperatuur
Diëlektrische constante	ook wel de relatieve permittiviteit genoemd, is de verhouding van de permittiviteit van dat materiaal (het diëlektricum) tot die van vacuüm bij dezelfde temperatuur
Dioxine	benaming voor de drie isomeren 1,2-, 1,3- en 1,4-dioxine, waarvan de moleculen een onverzadigde zesring bevatten met vier koolstof- en twee zuurstofatomen, $C_4H_4O_2$
Discrepantie	tegenstrijdigheid, tegenspraak
Enantiomeren	een van twee ongelijke moleculen die elkaars spiegelbeeld zijn
Enterohepatische circulatie	met betrekking tot dunne darm en lever
EROD	of ethoxyresorufine-O-deëthylase: wordt gebruikt om de activiteit van het ontgiftings-syteem van de lever te bestuderen. De aanwezigheid van stoffen zoals PCB's en PAK's verhogen deze activiteit. Dit wordt 'inductie' genoemd.
Exfoliatie	afschilfering
Exopthalmus	ziekelijke uitpuiling van de oogbol
Fagocytose	de eigenschap van sommige cellen om bacteriën of schadelijke stoffen te kunnen vernietigen
Gap juncties	kanalen die het transport van bepaalde moleculen rechtstreeks tussen de cellen mogelijk maken (zonder de extracellulaire ruimte te moeten passeren)
Genotoxiciteit	vermogen om potentieel schadelijke veranderingen in het DNA aan te brengen
Glomerulus	slagadertje dat bloed aanvoert en zich uiteindelijk vertakt in een kluwen haarvaten
Glucogenese	glycogeensynthese
Glycogeendepletie	Bij langdurige belastingen worden allereerst de intramusculaire glycogeenreserves verbruikt en bij voortdurende uitputtende belasting ook de reserves in de lever. Een volledige glycogeendepletie van de direct bij de inspanning betrokken spieren komt pas voor bij belastingen die langer dan één uur duren en is verregaand afhankelijk van de oorspronkelijke glycogeenvoorraad in de spieren bij aanvang (van bijvoorbeeld een lange duurloop).
Habitatreductie	afname van het beschikbare habitat
Hepatomegalie	leververgroting
Hepatotoxische	wat de lever beschadigt
Hermafrodiete	tweeslachtig wezen, mens die of dier dat kenmerken van beide geslachten in zich verenigt
Heterogeniteit	ongelijksoortigheid
Heterozygoot	de twee allelen van een diploid locus zijn verschillend
Homeostase	zelfregulering
Homing gedrag	het steeds terugkeren naar een vaste plaats
HPI-as	hypothalamus-hypofysse-bijnieras is het controlemechanisme voor de bijnier activiteit.
Hydrofobiciteit	een maat voor de 'waterafstotendheid' van een oppervlak
Hyperglykemie	abnormale verhoging van de suikerspiegel

Hyperkeratosis	overmatige verhoorning van de huid
Hypoglycemia	daling van de bloedglucose
Hypothyreoïdie	onvoldoende werking van de schildklier
Hypertrofie	abnormale toename in omvang en gewicht van een orgaan
Immunosuppressie	onderdrukking (= suppressie) van de natuurlijke afweerreactie (= immuunreactie) tegen lichaamseigen stoffen (zoals bij auto-immuunziekten) en/of lichaamsvreemde weefsels en organen (na transplantaties).
Immuunrespons	afweerreactie van de mens tegen binnendringende ziektekiemen
Intraperitoneaal	in de buikholte
Iteropare	meerdere voortplantingscycli in hun leven
Kyfose	buitenwaartse kromming van de ruggengraat
Lipofiel	de neiging hebbend zich op te lossen in apolaire stoffen, zoals alkanen
Lordosis	ziekelijk voorwaarts gekromde ruggengraat
Lysis	afbraak
Melanismen	donker pigment
Methylatie	een natuurlijk controlemechanisme dat de werking van genen in het DNA regelt.
Mitose	normale celdeling, waarbij het aantal chromosomen na de deling gelijk gebleven is
Mono-oxygenase systeem	organismen bezitten enzymsystemen die lichaamsvreemde stoffen omvormen en uitscheiden
Multimerische enzymen	eiwitten bestaande uit meerdere onderdelen
Mutagene	mutaties bevorderend of teweegbrengend
Necrosis	afsterven van het weefsel
Neonatale	pasgeboren
Neoplasis	nieuw gevormd weefsel, eventueel gezwel
Neurotoxisch	giftig voor het zenuwstelsel
Ovotestes	geslachtsklier waarin zowel testiculair weefsel als ovariumweefsel wordt aangetroffen
Pathogenen	ziekteverwekker
PCA	Principal Component Analyse: multivariate techniek om de variatie onder een groot aantal gecorreleerde variabelen te beschrijven met een klein aantal ongecorreleerde variabelen, die elk een lineaire combinatie vormen van de originele variabelen. PCA analyse zoekt naar een klein aantal lineaire combinaties om de data samen te vatten, en tegelijkertijd zoveel mogelijk informatie te bewaren.
Peroxidase	enzym dat oxidatie verwekt
Polluent	verontreinigende stof

Polyploïdie	toevoeging van een genoom tot de chromosoomsamenstelling
Reprotoxische	gevaarlijk voor voortplanting
Retinoïde depletie	ontlasten van lichaamsvloeistof
Scoliose	blijvende zijwaartse ruggengraatsverkromming
Selenaat	zout van seleenzuur
Seleniet	zout van selenigzuur
Semelpare	slechts één voortplantingscyclus in hun leven
Sinusoïde	sinusachtige verwijding voorkomend in de lever en de milt
Somatisch	lichamelijk
Spierdystrofieën	spierzwakte
Synergetische	van de aard van, betrekking hebbend op de synergie
Synergie	situatie waarin het effect van twee of meer samenwerkende of gecombineerde organen of functies groter is dan de som van de effecten die elk van de organen of functies alleen zou kunnen opwekken
Teratogene	misvorming veroorzakend
Vibriose	ziekte veroorzaakt door *Vibrio anguillarum* en is verantwoordelijk voor onstekingen in de huid
Vitellogenese	processen die nodig zijn om een eicel tot ontwikkeling te brengen
Xenobiotisch	elke biologische stof, die verplaatst is van zijn normale habitat; een scheikundige stof die vreemd is aan een biologisch systeem
Xeroftalmia	uitdroging van de slijmvliezen en het bindweefsel
Xerose	uitdroging
Zoöbenthos	dierlijk benthos

Woord vooraf

Van een (beperkt) aantal milieugevaarlijke stoffen verkrijgen we via diverse meetnetten (water, waterbodem, biota (paling)) tegenwoordig een goed beeld van hun aanwezigheid in het aquatisch milieu. Het is duidelijk dat veel van deze schadelijke stoffen niet onmiddellijk uit ons milieu zullen verdwijnen, zelfs al wordt het gebruik ervan aan banden gelegd of is reeds verboden. Voor PCB's bijvoorbeeld wordt er, gelet op de halfwaardetijden, van uitgegaan dat hun aanwezigheid en schadelijke effecten toch nog minstens gedurende de volgende 100 jaar zal merkbaar blijven. Organochloorpesticiden zoals DDT en de drins zijn al sinds de jaren 1970 verboden maar hun aanwezigheid in biota is nog steeds meetbaar. Het is daarom belangrijk dat ook de nadelige effecten van deze stoffen zo goed mogelijk gedocumenteerd worden want hierover is er veel minder bekend. Die nadelige effecten kunnen meetbaar zijn op verschillende vlakken, zo zijn er van een aantal stoffen effecten bekend op (sub)cellulair en histologisch niveau. Effecten op soortassociaties en biodiversiteit zijn echter veel minder bekend. In dat verband werd in Vlaanderen recentelijk aangetoond dat de aanwezigheid van zware metaalvervuiling een impact kan hebben op de IBI-score (visindex) en dus ook op de visgemeenschappen.

In opdracht van de VMM wordt een studie uitgevoerd naar de ecotoxicologische effecten van verontreinigende stoffen op paling en predatoren, tevens zullen de resultaten van het Vlaamse palingpolluentenmeetnet getoetst worden aan uit de literatuur gehaalde waarden om inzicht te krijgen in de verontreinigingtoestand in Vlaanderen.
Deze keuze is enerzijds ingegeven door het feit dat we van paling reeds metingen van allerlei vervuilende stoffen ter beschikking hebben. Dat laat toe om reële vervuilinglasten (bioaccumulatiegegevens in het dier zelf) te relateren aan eventuele meetbare effecten. Bovendien is bekend dat de belasting door de meeste vervuilende stoffen in paling vele malen hoger is dan bij andere soorten. Dit heeft te maken met specifieke fysiologische en ecologische aspecten van de soort (zeer hoog vetgehalte, plaats in de voedselpiramide, langlevende benthische soort, …). Gezien die hogere belasting is het waarschijnlijk dat ook de effecten dan ook belangrijker en beter meetbaar zijn. Ten slotte wordt de paling momenteel zeer sterk bedreigd en lijken de vervuilende stoffen in deze achteruitgang een belangrijke rol te spelen (althans volgens recente wetenschappelijke bevindingen). In het internationaal beleid wordt de paling in elk geval een aandachtssoort.

Nederlands abstract

Sinds ca. 1980 wordt over bijna het ganse Europese continent een steile daling van de palingpopulaties waargenomen en er wordt aangenomen dat de soort zich momenteel buiten de biologische veiligheidsgrenzen bevindt. Er zijn tal van mogelijke oorzaken van deze achteruitgang. Recent onderzoek heeft aangetoond dat vervuiling met dioxineachtige scheikundige stoffen (o.a. PCB's) een grote impact zou hebben op de ontwikkeling en het voortplantingssucces van de Europese paling. Deze studie beschrijft aan de hand van een literatuurstudie de nadelige effecten van vervuilende stoffen op paling. Er wordt een overzicht gegeven van de belangrijkste meetgegevens voor paling uit Vlaamse oppervlaktewaters. Op basis van de nieuwste wetenschappelijke inzichten uit deze literatuurstudie worden de Vlaamse meetwaarden van verschillende verontreinigende stoffen in paling getoetst. De dataset van vervuilende stoffen in paling werd via een statistisch model geanalyseerd waarbij het mogelijk bleek om verbanden te leggen tussen de fitness (vetgehalte en conditie) van de paling en een aantal milieuvariabelen, waaronder vervuilende stoffen. Met name voor de PCB's (vooral de hoger gechloreerde) en DDT werd een negatief verband met het vetgehalte aangetoond.

English abstract

The European eel (*Anguilla anguilla* L.) is a widespread catadromous species in decline. Review of the available information on the status of the stock supports the view that the population as a whole has declined in most of the distribution area, that the stock is outside safe biological limits and that current fisheries are considered outside sustainable limits. There are numerous possible causes for this decline. Recently, there is an increasing awareness that spawner quality might be an essential element in the decline of the species. Recent studies have shown that pollution with dioxin like substances, including PCBs may have a large impact on the reproduction success of the eel. This study gives a literature overview of the consequences of these contaminants on European eel. A review of latest data and reports on contaminants in eel has been given, and Flemish eel data are compared to toxic benchmarks from literature. An extensive dataset of contaminants has been analysed by statistical modelling, to show relationships between fitness (lipid content and eel condition) and various environmental variables. It was concluded that PCBs (especially the higher chlorinated ones) and DDTs have a negative impact on the lipid content of the eel.

INLEIDING

Het wijdverspreid voorkomen van schadelijke stoffen in het milieu blijft een belangrijke aangelegenheid voor de fauna en de volksgezondheid. Vele chemicaliën, zelfs reeds lang verboden stoffen, blijven nog in ons milieu aanwezig en accumuleren in het ecosysteem. Voor PCB's bijvoorbeeld wordt er, gelet op de halfwaardetijden, van uitgegaan dat de aanwezigheid en schadelijke effecten van PCB's toch nog minstens gedurende de volgende 100 jaar merkbaar zullen blijven. Organochloorpesticiden zoals DDT en de drins zijn al sinds de jaren 1970 verboden maar hun aanwezigheid in biota is nog steeds meetbaar. Naar aanleiding hiervan vaardigde de Europese Commissie een nieuw systeem uit, REACH, *Registration, Evaluation and Authorisation of Chemicals* dat moet instaan voor een grotere veiligheid bij het vervaardigen en gebruiken van chemische stoffen. De persistente en bioaccumulatieve substanties moeten vervangen worden door veiligere alternatieven indien deze laatste voorhanden zijn. Het nieuwe systeem moet er eveneens voor zorgen dat hiaten in de bestaande informatie omtrent de schadelijke eigenschappen van chemicaliën aangevuld worden[a] (EC, 2006). Het Europese Parlement keurde het REACH-voorstel goed in 2006 en het wordt van juni 2007 in stappen ingevoerd. De Kaderrichtlijn Water (2006) stelde voor om een aantal verontreinigende stoffen te meten in aquatische biota en te rapporteren over de scheikundige toestand van onze waterlichamen. Het doel is de bescherming van aquatische organismen en volksgezondheid. In deze nieuwe politieke context blijft monitoring van scheikundige stoffen in onze aquatische ecosystemen hun biota dus uitermate belangrijk om data aan te leveren die als basis kunnen dienen om toekomstige saneringsmaatregelen te evalueren.

Het meten van interne concentraties in organismen geeft inzicht in de beschikbaarheid en mogelijke risico's van stoffen in de voedselketen. Organismen nemen stoffen op uit het water of de waterbodem en door opname van voedsel. Veel stoffen hebben de eigenschap dat ze goed binden aan het vet van een organisme en moeilijk weer uitgescheiden worden. Door ophoping wordt de concentratie in het organisme dus hoger dan in het omringende milieu. Dit verschijnsel wordt bioaccumulatie genoemd. Door de ophoping van stoffen lenen sommige organismen zich uitstekend als biomonitor om de concentraties van stoffen in het aquatisch ecosysteem vast te leggen en in de tijd te volgen. Gehaltes in het water of zwevend stof kunnen extreem laag zijn in vergelijking tot die in de organismen. De bepaling van de stoffen in water is dan niet mogelijk, heeft een grote onzekerheid of ligt onder de detectiegrens (Maas, 2003a; Belpaire & Goemans, 2007).

---

[a] De Europese Commissie publiceerde eind oktober 2003 een ontwerpverordening inzake de registratie, evaluatie, en autorisatie van chemische stoffen. De reden voor dit voorstel van verordening was de bezorgdheid van de Commissie omtrent incidenten in de milieuzorg en de volksgezondheid en de toename van het aantal en de hoeveelheid chemische stoffen in ons milieu.
Het voorstel kadert tevens in een breder internationaal initiatief ter bevordering van duurzame ontwikkeling en het verantwoord beheer van chemische stoffen. Het verplicht de bedrijven onder meer om een aantal gegevens te verschaffen over de stoffen die ze produceren, gebruiken of importeren. De Europese Unie heeft zich hiertoe verbonden tijdens de VN-top over het wereldmilieu in Rio van 1992 en de VN-top in Johannesburg van 2002.
Het Europees Parlement keurde uiteindelijk het REACH-voorstel in een tweede lezing goed op 13 december 2006, en de Europese ministerraad aanvaardde het op 18 december 2006. De tekst van de verordening werd gepubliceerd in het Publicatieblad nr. L 396 van de Europese Unie van 30 december 2006. De regelgeving zal vanaf 1 juni 2007, in stappen, van kracht worden. Het Europees Chemicaliënagentschap in Helsinki zou in 2008 operationeel worden.
De gevraagde informatie en de toegestane termijnen voor het verschaffen ervan hangen af van de hoeveelheid die van elke stof wordt geproduceerd, gebruikt of geïmporteerd:

- >1 ton, registratie en evaluatie;
- >10 ton registratie, evaluatie en chemisch veiligheidsrapport.

Het meten van interne concentraties in organismen geeft ook inzicht in de beschikbaarheid van stoffen in voedselketens. Modelberekeningen van concentraties van gemeten stoffen in die organismen kunnen vervolgens een inschatting maken van de beschikbaarheid en mogelijke risico´s voor hogere organismen (Maas, 2003a).

Internationaal wordt geadviseerd om de waarde van het gebruik van paling als indicator van bioaccumuleerbare substanties te erkennen (Belpaire & Goemans, 2007). Aldus kunnen zowel de bronnen van vervuiling opgespoord worden als de evoluties van vuilvrachten in biota in tijd en ruimte opgevolgd worden (de Boer & Brinkman, 1994). Bovendien bevelen ook de OSPAR Commission (Oslo/Paris Convention for the Protection of the Marine Environment of the North-East Atlantic) en de Derde Noordzeeconferentie het gebruik van metingen in biota aan voor de monitoring van polluenten. Ook de recente Kaderrichtlijn Water (EG, 2000) vermeldt de noodzaak van metingen van polluenten in biota, alsook van de noodzaak van kwaliteitsnormstellingen. Voor een beperkt aantal stoffen (hexachlorobenzeen, hexachlorobutadieen, en methylkwik) worden zelfs milieukwaliteitsnormen voor biota voorgesteld (CEC, 2007). Voor kwik, lood en cadmium bestaan er al lange tijd consumptienormen in vis. Recent werd een nieuwe EU-norm voor dioxine en dioxineachtige PCB's ingesteld (EG, 2001; CEC, 2006a; EC, 2006).

In het Vlaamse milieubeleid wordt de laatste jaren steeds meer aandacht besteed aan de verspreiding van toxische stoffen in ons milieu. Er werden meetnetten opgezet (water, waterbodem, biota (paling)) waarvan de resultaten mogelijkheden aangeven voor het milieubeleid onder andere met betrekking tot de opvolging en de normering van milieugevaarlijke stoffen, de sanering van waterbodems, de regelgeving rond het gebruik en de risicobeoordeling van deze stoffen (doorstroming naar mens en natuur). Daarnaast is het ook belangrijk om inzicht te krijgen in de nadelige effecten van deze stoffen. Deze zijn meetbaar op verschillende vlakken, zo zijn er van een aantal stoffen effecten bekend op (sub)cellulair en histologisch niveau. Effecten op soortassociaties en biodiversiteit zijn echter veel minder bekend. In dat verband toonden Bervoets *et al.* (2005) in Vlaanderen recentelijk aan dat de aanwezigheid van zware metaalvervuiling een impact kan hebben op de IBI-score (Index voor Biotische Integriteit, visindex) en dus ook op de visgemeenschappen.

In deze studie wordt hoofdzakelijk aandacht besteed aan de ecotoxicologische effecten van vervuilende stoffen op de Europese paling (*Anguilla anguilla* (L.)) in Vlaanderen. Van alle onderzochte vissen bleek paling immers de grootste concentraties aan polluenten te bezitten (Weltens *et al*., 2002). Dit heeft te maken met de specifieke fysiologische en ecologische aspecten van de soort (zeer hoog vetgehalte, plaats in de voedselpiramide, langlevende benthische soort, …). Gezien die hogere belasting is het waarschijnlijk dat ook de effecten belangrijker en beter meetbaar zijn. Bovendien zijn er voor deze soort metingen van allerlei vervuilende stoffen ter beschikking. Dat laat toe om reële vervuilinglasten (bioaccumulatie gegevens in het dier zelf) te relateren aan eventuele meetbare effecten. Ten slotte is paling momenteel zeer sterk bedreigd en bevindt de soort zich buiten de biologische veiligheidsgrenzen en lijken de vervuilende stoffen in deze achteruitgang een belangrijke rol te spelen (althans volgens recente wetenschappelijke bevindingen). In het internationaal beleid is paling in elk geval een aandachtssoort geworden.
Vooreerst wordt in een literatuurstudie inzicht gegeven in de nadelige effecten van deze vervuilende stoffen op paling en een aantal van zijn predatoren, o.a. de otter. Het lijkt immers zo te zijn dat de PCB-concentraties in paling dermate groot zijn dat dit de terugkeer van de otter naar onze waterlopen tegenhoudt. Er wordt een overzicht gegeven van de geanalyseerde stoffen en hun eigenschappen, er wordt verklaard waarom paling geschikt is als bio-indicator en het Vlaamse palingpolluentenmeetnet met zijn resultaten wordt voorgesteld. Voor sommige polluenten is maar weinig informatie beschikbaar

over de ecotoxicologische effecten bij paling. In dat geval worden de resultaten van onderzoek bij andere soorten vermeld.

De analysegegevens van het palingpolluentenmeetnet werden recentelijk gevaloriseerd via wetenschappelijk onderzoek en publicaties, waarbij aandacht besteed werd aan de schadelijke effecten van de onderzochte stoffen (Roose *et al*., 2003; Versonnen *et al*., 2004; Morris *et al.*, 2004; Maes *et al*., 2005; Hoff *et al*., 2005; Van Campenhout, subm., e.a.). In deze studie wordt een vulgariserend overzicht gemaakt van deze wetenschappelijke artikels.

Op basis van de nieuwste wetenschappelijke inzichten uit de literatuurstudie worden de Vlaamse meetwaarden van verschillende verontreinigende stoffen in paling getoetst.

Het vetgehalte van de paling is voor een succesvolle migratie en reproductie zeer belangrijk (Van Ginneken *et al*, 2000, 2005a; Durif *et al*, 2006). Er is evidentie dat tussen bepaalde watersystemen de gemiddelde vetconcentraties van paling zeer sterk verschillen. In een laatste deel worden de relaties tussen polluentgehalten in visvlees met het vetgehalte en de conditie van de paling onderzocht. Dit omvat dus geen nieuwe weefselanalyses maar een doorgedreven statistische analyse van de polluentendatabank.

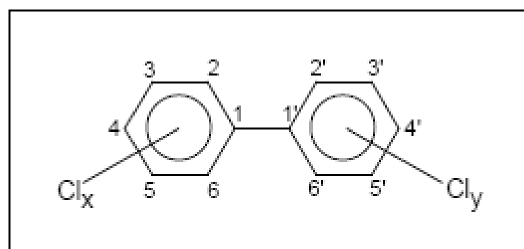
DEEL I LITERATUURSTUDIE

I. Overzicht van de geanalyseerde stoffen

I.1. Polychloorbifenylen (PCB's)

I.1.1. Chemische structuur

PCB's of polychloorbifenylen zijn gechloreerde scheikundige verbindingen die behoren tot de klasse van de poly-gehalogeneerde aromatische koolwaterstoffen. Het is een klasse van organische stoffen met 1 tot 10 chlooratomen die vastzitten aan een bifenylmolecule (Figuur 1.1). Het zijn lipofiele verbindingen die afhankelijk van de plaats van de chlooratomen aan de benzeen-(bifenyl)-ringen 209 varianten hebben, ook wel congeneren genoemd. Iedere congeneer heeft zijn eigen fysische en chemische eigenschappen en ook het effect van de congeneren op organismen is specifiek. In het algemeen zijn PCB's met minder chlooratomen beter wateroplosbaar, meer ontvankelijk voor chemische en biologische degradatie en hopen zich minder op in het milieu (Safe, 1984). Een beperkt aantal congeneren van de PCB-familie (11 congeneren) heeft met dioxine vergelijkbare giftige eigenschappen. Verder geldt dat bij verbranding van PCB's bij temperaturen onder 1000°C (bijvoorbeeld in gewone vuilverbrandingsovens) dioxinen kunnen gevormd worden waarbij de giftigheid sterk kan toenemen.



Figuur 1.1: De polychloorbifenylmolecule (MIRA, 2005a).

I.1.2. Fysische eigenschappen

De algemene eigenschappen van PCB's zijn het vloeibaar zijn bij kamertemperatuur, hoog kookpunt (275-450°C), niet explosief, lage elektrische geleidbaarheid, zeer hoge thermische geleidbaarheid, zeer hoge thermische en chemische stabiliteit, niet corrosief, hoge diëlektrische constante, slechte oplosbaarheid in water en waterige oplosmiddelen (Aroclor tussen 0,0027 en 0,59 mg l^{-1}) en de lage dampspanning (bij 25°C tussen 10-11 en 10-6 atm.) waardoor de stoffen weinig vluchtig zijn. PCB's lossen echter wel makkelijk op in de meeste organische oplosmiddelen (zeer hoge octanol/water verdelingscoëfficiënt) en ook in olie en vet. De commerciële bruikbaarheid van PCB's was grotendeels op de chemische stabiliteit gebaseerd, samen met de onbrandbaarheid. Bovendien zijn PCB's elektrische isolatoren, in tegenstelling tot op water gebaseerde vloeistoffen. Het zijn zeer stabiele verbindingen die niet makkelijk uiteenvallen. Daarom blijven ze lang in het milieu aanwezig.

Zoals eerder aangehaald zijn PCB-congeneren heel lipofiel en persistent en hebben ze de neiging om te accumuleren in het milieu en de voedselketen. Sommige PCB-congeneren zijn aanzienlijk meer toxisch dan andere. Om deze reden werd het concept TEQ (toxische equivalent) ingevoerd. Toxische equivalentiefactoren (TEF) drukken de relatieve toxiciteit van dioxineachtige verbindingen uit ten op-

zichte van de referentieverbinding 2,3,7,8-tetrachloordibenzo-*p*-dioxine (TCDD, het meest toxische dioxine, TEF = 1) (Tabel 1.1). De niet-dioxineachtige PCB's kunnen ook een toxisch effect hebben, maar het toxiciteitmechanisme werkt anders dan bij dioxines en aanverwante stoffen zodat de toxiciteit in deze gevallen niet met TEF-waarden kan aangegeven worden (Goemans *et al*., 2003).

Tabel 1.1: TCDD equivalentiefactoren (TEF) voor toxische PCB's (Maas, 2003a).

PCB-nummer	TEF-waarde (WHO, 1998)
PCB 77	0,0001
PCB 105	0,0001
PCB 118	0,0001
PCB 126	0,1
PCB 156	0,0005
PCB 169	0,01
TCDD	1

I.1.3. Toepassingen

Tussen 1930 en het begin van de jaren 1980 werden PCB's geproduceerd voor toepassingen in industriële, elektrische en hydraulische toestellen. Daar kwamen hun uitstekend elektrisch isolatievermogen, prima brandweerstand, geschikte warmtegeleiding en viscositeit goed van pas. PCB's werden geproduceerd door chlorering van bifenyl. De commerciële productie startte rond 1929 en de totale hoeveelheid PCB's wereldwijd geproduceerd bedraagt ca. 1,5 10^6 ton. Ze werden geproduceerd onder verschillende merknamen: Clophen, Bayer Duitsland, Aroclor Monsanto USA, Askarel USA (mengsel van PCB's en chloorbenzeen), Fenclor Italië, Kanechlor Kanegafuchi Japan, Santotherm Mitsubishi Japan, Phenoclor en Pyralène Prodalec Frankrijk. Over de jaren heen was er een verschuiving naar minder sterk gechloreerde PCB's. In de meeste landen werd ondertussen de productie van PCB's verboden of stopgezet toen duidelijk werd dat PCB's een gevaar voor mens en milieu betekenen. In Vlaanderen gebeurde dit in 1986. Commercieel geproduceerde PCB-vloeistoffen worden in de loop van de tijd verontreinigd met polygechloreerde dibenzofuranen, waarvan sommige bijdragen tot een dioxine-achtige toxiciteit. Desondanks ligt er in de (water)bodem en in het slib nog een erfenis, aangezien PCB's ruim 50 jaar zijn toegepast in industrie en techniek. En ook zijn er nog steeds transformatoren en condensatoren in gebruik die PCB's bevatten.

I.1.4. Beleid

Omwille van deze toxische eigenschappen werden wetgevingen ingevoerd om de opname van PCB's voor de volksgezondheid te beperken. In België wordt door het KB van 9 juli 1986 het op de markt brengen van PCB's en van apparaten die PCB's bevatten verboden (OVAM, 2000). In de Slotverklaring van de Derde Internationale Conferentie over de Bescherming van de Noordzee van 8 maart 1990 en in de beslissingen van de vergadering van de Commissies van Oslo en Parijs ter voorkoming van de verontreiniging van de Noordzee van 21 september 1992 (Parcom 92/3), en later op 23 oktober 1995 en op 2 juli 1996 op EU-niveau, verbond België er zich toe om ten laatste tegen eind 1999 alle identificeerbare PCB's uit te bannen en te vernietigen. In 1996 bepaalt de richtlijn 96/59/EG van de Raad van de Europese Unie onder meer dat alle apparaten die volgens de bepalingen van de richtlijn moeten worden geïnventariseerd, ten laatste op 31 december 2010 moeten gereinigd zijn en/of verwijderd. Het Milieubeleidsplan 1997-2001 stelt echter dat België redelijkerwijs niet meer kan vol-

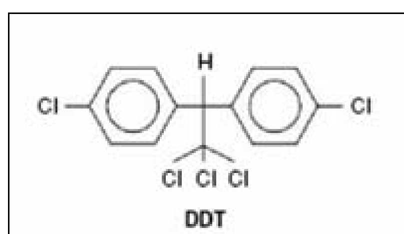
doen aan de bepalingen van de Parcombeslissing 92/3. De verwerking van PCB-houdende apparaten moest volgens dit plan uiterlijk op 31 december 2005 gerealiseerd zijn en het plan legt een actief vernietigingsbeleid op. In 1998 werd de Europese richtlijn 96/59/EG omgezet in Vlaamse wetgeving (BVR van 24 maart 1998; BS 30 april 1998 en BVR van 17 december 1997; BS 16 april 1998). Het verwijderingplan wordt geconcretiseerd in het BVR 17 maart 2000 (BS 17 mei 2000). Het Achtergronddocument MIRA 2005 'Verspreiding van PCB's' geeft een uitgebreid overzicht over deze materie (MIRA, 2005a).

Heden wordt er in België een consumptienorm voor vis gebruikt die bij Koninklijk Besluit op 16 april 2002 werd vastgelegd. Het maximale gehalte aan t-PCB's in vis en voedingsmiddelen bereid op basis hiervan mag slechts 75 $ng.g^{-1}$ product bedragen (Belgisch Staatsblad, 2002). Deze t-PCB's is gebaseerd op zeven congeneren, de zogenaamde indicator PCB's (PCB28, PCB52, PCB101, PCB118, PCB138, PCB153 en PCB180). Van deze congeneren is geweten dat ze bioaccumuleren in het menselijke dieet en dat ze representatief zijn voor alle PCB's omdat ze de invloedrijkste congeneren zijn in biotische en abiotische matrices (Bakker *et al.*, 2003). De som van de zes indicator PCB's (zeven indicatoren zonder congeneer 118) vertegenwoordigt 50% van de totale niet-dioxineachtige PCB's in de voeding (EFSA, 2005).
Het overheidsbeleid is erop gericht deze apparaten zo snel mogelijk te reinigen of te verwijderen. Ze moeten daarom op een gecontroleerde manier opgeruimd worden door erkende afvalverwijderingsbedrijven. Tegen 2010 mogen er geen PCB's meer gebruikt worden (MIRA, 2005a).

I.2. Pesticiden

I.2.1. Chemische structuur

Pesticiden zijn chemische bestrijdingsmiddelen waarvan de chemische structuur minstens uit één benzeenring bestaat waaraan één of meerdere chlooratomen vastgehecht zijn. Ze zijn schadelijk voor alle levende organismen omwille van hun grote affiniteit voor vetweefsels en hun lange persistentie in het milieu. Figuur 1.2 geeft de moleculaire structuur weer van de meest voorkomende persistente organische polluent: DDT (dichloordifenyltrichloorethaan) (Pocar *et al*., 2003).



Figuur 1.2: De moleculaire structuur van de meest voorkomende persistente organische polluent: DDT (dichloordifenyltrichloorethaan).

I.2.2. Fysische eigenschappen

Een nadeel van veel chemische bestrijdingsmiddelen is dat de stof meestal niet helemaal specifiek is en dat niet alleen het te bestrijden organisme wordt vergiftigd, maar ook andere organismen. Pesticiden worden intussen overal aangetroffen: in grondwater, in regenwater, in sneeuw, in de bodem en in de lucht, in voedingsmiddelen, in drinkwaterreserves en in kraantjeswater. Sommige pesticiden hopen

zich op in de bodem of in planten en dieren. Langs verschillende wegen komen ze in het lichaam terecht: langs de mond, de luchtwegen en de huid. Zelfs in lage dosissen kunnen ze er schade veroorzaken. Bovendien kunnen ze elkaars schadelijke werking versterken. Een tweede nadeel is dat er resistentie tegen het middel kan ontstaan bij het te bestrijden organisme.
Een overzicht van de gehanteerde normen en RfD-waarden (orale referentie dosis) voor een aantal pesticiden wordt gegeven in Tabel 1.2 (Goemans *et al*., 2003).

Tabel 1.2: Overzicht van de gehanteerde normen en RfD-waarden (orale referentie dosis) voor een aantal orghanochloorpesticiden (Goemans *et al*., 2003).

Pesticide	Norm	RfD (EPA, 2000)
lindaan (γ-HCH)	200 $ng.g^{-1}$ BW(1)	0,30 µg/kg/dag
α-HCH (hexachlorocyclohexaan)	50 $ng.g^{-1}$ BW(1)	
HCB (hexachloorbenzeen)	100 $ng.g^{-1}$ BW(1)	0,80 µg/kg/dag
endrin		0,30 µg/kg/dag
dieldrin	100 $ng.g^{-1}$ BW(2)	0,05 µg/kg/dag
DDT's	1000 $ng.g^{-1}$ BW(2)	0,50 µg/kg/dag

BW: versgewicht (body weight)
(1) Nederlandse tolerantiewaarden voor consumptie
(2) Amerikaanse en Canadese consumptienormen

I.2.3. Toepassingen

Pesticiden zijn chemische stoffen die gebruikt worden voor de bestrijding van allerlei ongewenste aantastingen van planten, dieren en materialen. Ze worden o.a. in de landbouw gebruikt om planten te beschermen tegen plagen, ziekten en overwoekering door onkruid (gewasbeschermingsmiddelen). Ze worden ook ingezet om mensen, (gedomesticeerde) dieren en materialen (oogst of andere waardevolle materialen zoals documenten) te vrijwaren van plagen of hinderlijke organismen. Soms worden bijvoorbeeld scheepsrompen, koelwaterinlaatpijpen of terrassen of plantsoenen uit technisch of esthetisch oogpunt met chemische bestrijdingsmiddelen vrijgehouden van ongewenste organismen. In deze toepassingen spreekt men van biociden.

I.2.4. Beleid

Een aantal pesticiden zijn reeds lange tijd verboden in België. In de ontwikkelingslanden daarentegen worden ze wel nog gebruikt omwille van de lage kostprijs en hun efficiëntie. Ondanks het verbod in België worden ze nog steeds in vrij hoge concentraties teruggevonden in ons milieu.
Het KB 1974 verbood het gebruik van organochloorpesticiden, hexachlorobenzeen (HCB), dieldrin en DDT en derivaten. Producten op basis van chlordaan werden verboden in 1981 en het gebruik van lindaan in 2002. Toch worden deze stoffen nog steeds in vrij hoge concentraties teruggevonden in ons milieu. Dit duidt op de extreme persistentie van deze polluenten (de halfwaardetijd van DDT en sommige van zijn metabolieten kan meer dan 50 jaar bedragen) en/of het feit dat illegale voorraden gebruikt worden. Tabel 1.3 geeft een overzicht van het verbod van een aantal pesticiden.
Volgens de bestaande Belgische wetgeving is er een onderscheid tussen de bestrijdingsmiddelen voor landbouwkundig gebruik (KB van 28/2/1994) enerzijds en voor niet landbouwkundig gebruik anderzijds, de zogenaamde biociden (KB van 22/5/2003), waarbij bestrijdingsmiddelen naargelang toe-

passingsveld onder beide categorieën kunnen vallen. De Europese regelgeving maakt een onderscheid tussen gewasbeschermingsmiddelen (richtlijn 91/414/EEG) en biociden (richtlijn 98/8/EG). De belangrijke groep van de biociden zijn gereglementeerd in een aparte EU-richtlijn (98/8/EG). Deze richtlijn omvat een breed gamma producten (MIRA, 2005b).

In de EG-richtlijn 76/464/EEG wordt gestreefd naar een beëindiging van de emissie van een reeks werkzame stoffen die worden ingedeeld als volgt (cursief = erkend in België):

- **Lijst I**: “zwarte stoffen” met een nood aan emissiewaarden of kwaliteitsdoelstellingen: atrazine, *simazine, trifluralin, endosulfan, dichloorvos*, parathion, *malathion*, azinfosmethyl, azinfos-ethyl, *fenitrothion*, fenthion.
- **Lijst II**: “grijze stoffen” met nood aan emissie reductieprogramma’s: *linuron, bentazon, chloridazon*, monolinuron, propanil, chlordaan, heptachloor en –epoxide, 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), methyl chlorophenoxy acetic acid (MCPA), 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid (2,4,5-T), mecoprop, *dichloorprop*, parathion, *malathion, dimethoaat*, mevinfos, *coumafos*, demeton, demeton-S-methyl, *demeton-O-methyl*, disulfoton, foxim, methamidofos, *omethoaat*, parathion-methyl, triazofos, *trichloorfon* (MIRA, 2005b).

De Kaderrichtlijn Water (2000) bevat in annex een lijst van "prioritaire stoffen", vastgelegd via een beschikking van Raad en Parlement op 20 november 2001 (2455/2001). Ze bevat 33 stoffen en/of stofgroepen die dus allemaal "prioritair" zijn, en waarvan 10 "gevaarlijk" zijn en er 14 nog verder geëvalueerd moeten worden of ze ook het label "gevaarlijk" krijgen.

Het Persistente Organische Polluenten (POP)-protocol van Aahrus (MiNa Raad, 2003) onder de LR-TAP Conventie van Genève (Long-Range Transboundary Air Pollution) betreft het beheersen, terugdringen of elimineren van lozingen, emissies en verliezen van persistente organische verontreinigende stoffen. Het werd van kracht op 23/10/03 (http://www.unece.org/env/lrtap/pops_h1.htm). Het gaat over 16 stoffen waaronder elf pesticiden, twee industriële chemicaliën en drie tussenproducten of contaminanten. Voor producten zoals aldrin, chlordaan, chloordecon, dieldrin, endrin, hexabroombifenyl, mirex en toxafeen geldt een verbod op de aanmaak en het gebruik ervan. Andere producten zoals DDT, heptachloor, hexachloorbenzeen en PCB’s zullen volgens een bepaald tijdschema worden afgebouwd. Ten slotte worden er beperkingen voorzien op het gebruik van DDT, HCH (inclusief lindaan) en PCB’s (MIRA, 2005b).

Tabel 1.3: Overzicht van de ingang van het verbod op een aantal pesticiden.

Pesticiden	verbod sinds
α-HCH	2002
γ-HCH (Lindaan)	2002
Dieldrin	1974
Aldrin	1976
Endrin	1976
Hexachlorobenzeen (HCB)	1974
p,p’-DDD (TDE)	1974
p,p’-DDT	1974
p,p’-DDE	1974
trans-nonachloor	1981

I.3. Zware metalen

I.3.1. Chemische structuur

Zware metalen zijn een groep metalen met een hoog atoomgewicht en dus een hoge dichtheid. De meeste zijn van nature aanwezig in vrijwel alle bodems, de gehaltes zijn afhankelijk van de mineralogische samenstelling van de bodem en de optredende verweringsprocessen. Tot de zware metalen behoren lood, cadmium, kwik en arseen die zelfs bij lage concentraties zeer giftig zijn. Omwille van hun toxiciteit worden ook edelmetalen tot deze categorie gerekend. Antropogene verspreiding gebeurt door lozing via lucht en oppervlaktewater en door direct contact met de bodem. Zware metalen komen op en in de bodem terecht door atmosferische depositie of door het storten van afvalstoffen of het gebruik van meststoffen. Na doorsijpeling kunnen ze het grondwater bereiken of via afspoeling het oppervlaktewater verontreinigen. Ze kunnen zich snel neerzetten op het bodemmateriaal. Van hieruit treedt een langdurige nalevering van metalen naar het oppervlaktewater op.

I.3.2. Fysische eigenschappen

Zware metalen zijn persistent en worden dus niet afgebroken, noch in het milieu, noch bij de verwerking van voedingsmiddelen, noch in het lichaam (waar ze wel gedeeltelijk worden uitgescheiden). Hun concentraties nemen slechts af door fysische verwijdering (MIRA-T, 2002).

Een aantal metalen vervullen een reeks essentiële biologische functies. De alkalimetalen natrium en kalium en de aardalkalimetalen calcium en magnesium zijn zeer belangrijk voor alle vormen van leven en spelen een rol in verschillende biologische regulatiesystemen. Cadmium, kwik en lood behoren tot de metalen die geen biologische functie hebben. Wanneer ze op de ene of de andere manier toch beschikbaar worden voor organismen, zijn ze vaak reeds zeer toxisch bij een relatief lage concentratie. Hoewel sommige metalen essentieel zijn voor biologische systemen, zijn alle metalen toxisch vanaf specifieke kritische concentraties. Voor sommige essentiële metalen zoals zink en koper is het overgangsgebied tussen wat nodig is en wat giftig is zeer nauw. In vervuilde milieus leven vele organismen dan ook op de grens van wat ze kunnen verdragen. Voor zowel de essentiële als de niet-essentiële metalen is het dan ook zeer belangrijk dat hun fysische en chemische distributie in het milieu relatief constant blijft (Rainbow, 1989; Foulkes, 1990).

Zware metalen en hun verbindingen kunnen het voedsel contamineren langs verschillende wegen. Zo kunnen zij in het voedsel terechtkomen doordat planten ze opnemen uit de bodem, door stofneerslag, tijdens de voedselbereiding of door migratie uit het verpakkingsmateriaal. Vissen zijn meer gecontamineerd als ze in vervuild water leven. Vee neemt zware metalen op bij het eten van ruwvoeder en gras. Bij dieren stapelen de zware metalen zich vooral op in de lever en in de nieren van oudere dieren. De kans op hogere gehaltes is groter bij runderen en paarden dan bij varkens, omdat runderen en paarden grazen en langer leven.

I.3.3. Toepassingen (MIRA, 2005c))

Zware metalen worden aangewend in de woningbouw (dakgoten, dakbedekking, waterleiding, glasramen), in het verkeer voor de vervaardiging van voertuigen (verzinking van koetswerken, batterijen), in de energievoorziening voor het elektriciteitsnetwerk (kabels) en in de industrie (pigmenten, additieven). Het aandeel van de doelgroepen verschilt naargelang het metaal.

A. Koper (Cu)

Koper is één van de belangrijkste metalen en heeft verscheidene commerciële toepassingen omwille van zijn duurzaamheid, buigzaamheid en elektrische en thermische geleiding. De belangrijkste toepassingen van koper wereldwijd zijn elektrische bedrading en kabels, maar ook andere elektronische toepassingen hebben een belangrijk aandeel. Koper wordt ook veel gebruikt in de bouwsector zoals in gas en waterleidingen, dakwerk en goten (WHO, 1998). Andere toepassingen worden gevonden in transportuitrustingen, airconditioning en diepvriezen, maar ook in het fabriceren van machineonderdelen, munten, militaire en consumentengoederen. Naast het gebruik van koper als metaal wordt een klein percentage ook aangewend voor het aanmaken van afgeleide stoffen. Het derivaat kopersulfaat ($CuSO_4$) wordt zowel in de industrie als in de landbouw gebruikt. In de industrie kent het toepassingen bij de productie van chroomkoperarsenaat (houtbeschermingsmiddel), bij galvanisatie en bij petroleumraffinage. In de landbouw wordt kopersulfaat gebruikt als fungicide, pesticide, algicide, voedingssupplement en meststof.

B. Zink (Zn)

Zink is het vierde meest gebruikte metaal in de wereld na ijzer, aluminium en koper. Zn wordt hoofdzakelijk gebruikt als beschermende coating op andere metalen. Omdat Zn echter minder sterk is, wordt het vaak verbonden met andere metalen in legeringen, zoals brons en messing (ATSDR, 1999). Verder kent Zn ook toepassingen in de houtbescherming, als katalysator, in verf, in keramiek, meststoffen en batterijen en tenslotte ook in explosieven, medische en huishoudelijke toepassingen en geneesmiddelen.

C. Cadmium (Cd)

Wereldwijd komt ongeveer 25 000 ton cadmium in het milieu terecht waarvan de helft via natuurlijke processen zoals erosie, bosbranden en vulkaanuitbarstigen. Cd komt ongewild vrij bij de productie van ijzer en staal en van non-ferro metalen (zink, lood en koper), bij de verbranding van fossiele brandstoffen en huishoudelijk afval en bij de toepassing van cement en meststoffen gebaseerd op fosfaat (WHO, 2000). Bijna al het uitgestoten cadmium komt uiteindelijk in de bodem terecht waar het bindt aan de organische fractie. Vanuit de bodem kan Cd de voedselketen besmetten via opname door het wortelsysteem van planten. Meer dan 75% van het geproduceerde cadmium wordt aangewend bij de productie van Ni-Cd batterijen onder de vorm van cadmiumhydroxide. Verder wordt Cd gebruikt als geel tot rood pigment bij het kleuren van producten, gaande van plastics tot inkten. Andere toepassingen van Cd zijn het gebruik als PVC-stabilisator en in metaalcoatings ter preventie van corrosie. Cd wordt gemengd onder diverse legeringen voor elektrische geleiders (Wilson, 1988).

D. Kwik (Hg)

Kwik heeft vele toepassingen in de industrie omwille van zijn unieke eigenschappen zoals vloeibaarheid op kamertemperatuur, een uniforme volume-expansie over het gehele temperatuursbereik, hoge oppervlaktespanning en de mogelijkheid om zich te binden met andere metalen (Daenens & Tygat, 1995). Eén van de grootste industriële gebruiken van kwik situeert zich in de chlooralkali-industrie, waar kwik gebruikt wordt in de elektrolyse van NaCl om chloride, hypochloriet en natriumhydroxide te maken. Dit procédé wordt echter geleidelijk aan afgebouwd omdat het oorzaak is van belangrijke antropogene emissies. Kwik wordt ook gebruikt in elektrische toepassingen zoals alkalinebatterijen, elek-

trische ontladingslampen, oscillatoren en krachtschakelaars voor motoren. Verder wordt het ook gebruikt in wetenschappelijke en medische precisie-instrumenten zoals thermometers, bloeddrukmeters en geijkt glaswerk, als katalysator in reacties waarbij polymeren gevormd worden zoals vinylchloride en urethaanschuim en als middel voor tandherstellingen omdat het gemakkelijk bindt met metalen.
$HgCl_2$ (corrosief sublimaat) is een sterk reactieve verbinding die proteïnen denatureert en werd in het verleden gebruikt als ontsmettingsmiddel voor wonden. Kalomel (Hg_2Cl_2) is het meest bekende Hg^{1+}-zout en werd in het begin van de eeuw toegepast in tandpasta en antiwormmiddelen. Daarnaast werd het ook gebruikt in elektroden. De organische verbinding methylkwik werd gebruikt als fungicide in verf (langere houdbaarheid) en op zaden en granen, maar dit werd verboden omwille van de hoge toxiciteit.

E. Arseen (Ar)

Arseenverbindingen worden in de eerste plaats gebruikt in de houtverwerkende nijverheid als biocide voor de bescherming van hout (Ignatow *et al.*, 1991). Andere toepassingen zijn het gebruik in medicijnen, de productie van bepaalde types glas, als groen kleurpigment of als metaal in legeringen.

F. Chroom (Cr)

Chroom is het hoofdmetaal in legeringen van verschillende types roestvrij en hitteresistent staal. Percentages tot 6% Cr verhogen de hardheid van het staal en meer dan 10% Cr zorgt ervoor dat het staal resistent wordt tegen zuren en oxidatie op hoge temperaturen (Slooff *et al.*, 1990). Andere toepassingen binnen de industrie zijn pigmentatie van verven, leerlooierij, fungicide, houtbeschermingsmiddel. Cr wordt gebruikt in ontsmettingsmiddelen en bloedstelpende middelen en in brouwerijen als algicide om bacteriën gistgroei in proceswaters tegen te gaan.

G. Lood (Pb)

Het commercieel gebruik van lood is gestoeld op de volgende eigenschappen: gemakkelijk vorm te geven, hoge densiteit, laag smeltpunt, lage sterkte, gemakkelijk te produceren, zuurresistentie, elektrochemische reactie met zwavelzuur en de chemische stabiliteit in lucht, water en bodem. Het meeste lood wordt aangewend in de productie van loodaccumulatoren die gebruikt worden in de automobielindustrie. Andere belangrijke toepassingen zijn stralingsschilden in nucleaire centrales en röntgenmachines, dakbedekkingen en het isoleren van hoogspanningskabels. Zijn corrosieresistentie maakt het materiaal geschikt voor buizen en andere benodigdheden in chemische processen. De densiteit maakt Pb geschikt voor het maken van munitie en gewichten. Samen met tin vormt het een soldeermetaal. Loodderivaten, zoals loodoxide worden geïncorporeerd in glas om het ontsnappen van straling te belemmeren in kathodebuizen (televisie en computerschermen). Vroeger werd lood gebruikt als pigment in verven en als anti-klopmiddel in benzine.

H. Nikkel (Ni)

Nikkel wordt vooral gebruikt in legeringen omwille van corrosieresistentie, warmteresistentie, hardheid en sterkte. Cu-Ni-legeringen (Monel-metaal) worden gebruikt in industriële loodgieterijen, zeebenodigdheden, petrochemische installaties, warmtewisselaars en vele andere producten. Ni-Cr-legeringen worden gebruikt voor warmte-elementen. Ni-Fe- Cr-legeringen zorgen voor sterkte en corrosieresistentie over een groot temperatuursbereik. Grote hoeveelheden nikkel worden gebonden met ijzer voor het maken van staallegeringen, roestvast staal en gietijzer. Roestvast staal bevat gemiddeld 8-10%

Ni. Nikkel wordt ook gebruikt omwille van zijn magnetische eigenschappen: de meeste permanente magneten zijn een legering van ijzer en nikkel (Lewis en Cadwell, 2004). Andere toepassingen zijn ook nog het gebruik in batterijen, brandstofcellen, of als katalysatoren en dergelijke meer.

I.3.4. Beleid

Ook voor zware metalen gelden toxicologische grenswaarden die internationaal zijn vastgelegd. In België (Europa) zijn er slecht drie zware metalen waarvoor er een consumptienorm bestaat (EG, 2001). In Tabel 1.3 wordt een overzicht gegeven van deze Europese normen en de referentiedosissen zoals berekend door de EPA (American Environmental Protection Agency) (Goemans *et al*., 2003).

Tabel 1.4: Overzicht van de geldende normen in België en RfD-waarden (orale referentie dosis) voor de beschouwde zware metalen (Goemans *et al*., 2003).

Zwaar metaal	Norm	RfD (EPA, 2000)
Kwik (Hg)	1000 $ng.g^{-1}$ BW	0,1 µg/kg/dag[(1)]
Cadmium (Cd)	100 $ng.g^{-1}$ BW	1 µg/kg/dag
Lood (Pb)	400 $ng.g_{-1}$ BW	-
Koper (Cu)	-	-
Zink (Zn)	-	300 µg/kg/dag
Nikkel (Ni)	-	-
Chroom (Ch)	-	3 µg/kg/dag
Arseen (Ar)	-	0,3 µg/kg/dag[(2)]
Selenium (Se)	-	5 µg/kg/dag

BW: versgewicht (body weight)

[(1)] RfD van toepassing op methylkwik

[(2)] RfD van toepassing op anorganisch arseen

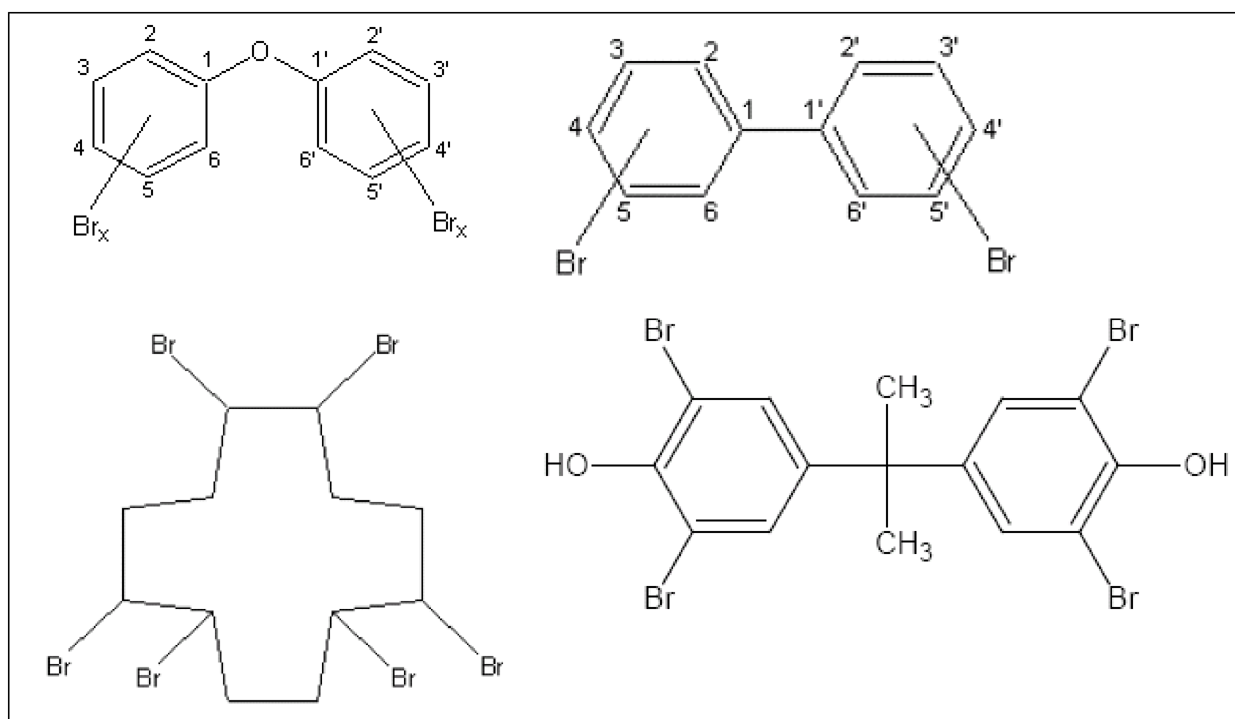
I.4. Gebromeerde vlamvertragers

I.4.1. Chemische structuur

Gebromeerde vlamvertragers zijn een groep chemicaliën die worden toegevoegd aan een verscheidenheid aan producten zoals computers, tv's, textiel en bouwmaterialen. Het is de bedoeling om de ontvlambaarheid van die producten te verminderen en de kunststofmaterialen niet te laten bijdragen aan de verdere ontwikkeling of verspreiding van een brand. Voorbeelden van gebromeerde vlamvertragers zijn polybroomdifenylethers (PBDE's), hexabromocyclododecaan (HBCD) en tetrabromobisfenol-A (TBBP-A) en de ondertussen niet meer geproduceerde polybroombifenylen (PBB's). Ze worden onderverdeeld in reactieve of additieve bestanddelen. De reactieve vlamvertragers (TBBP-A) worden chemisch gebonden in plastic terwijl additieve vlamvertragers (PBDE's) gebruikt worden in polymeren en gemakkelijker kunnen vrijgesteld worden in de omgeving in vergelijking met de reactieve vlamvertragers (Hutzinger *et al.*, 1976; Hutzinger & Thoma, 1987). De chemische structuur van deze producten is weergegeven in Figuur 1.3.

De groepen die momenteel de meeste aandacht opeisen zijn de PBDE's en HBCD. De chemische analyse van deze twee groepen van verbindingen in milieustalen kan momenteel zeer goed worden

uitgevoerd. PBDE’s kenmerken zich door hun gelijkenissen met PCB’s. PBDE’s bestaan uit een reeks verbindingen afgeleid van een difenylethermolecule, waarin één of meer waterstofatomen door een broomatoom zijn vervangen. Afhankelijk van de positie van de broomatomen en hun aantal (1 tot 10) bestaan theoretisch 209 mogelijke PBDE’s (zgn. congeneren) die in de IUPAC-nomenclatuur elk een nummer (1-209) krijgen. Binnen dezelfde bromeringsgraad (aantal Br-atomen) verschilt het aantal mogelijke isomeren sterk. PBDE’s met dezelfde bromeringsgraad noemt men homologen.
HBCD lijkt een eenvoudige molecule maar is dit niet. Verschillende enantiomeren zijn mogelijk afhankelijk van de driedimensionale structuur (α-,β-,γ-HBCD en twee mesovormen). Daarnaast bestaan er van elke enantiomeer twee optisch verschillende diastereo-isomeren. Wat de relevantie en impact van deze verschillende vormen van HBCD is, staat momenteel nog niet ontegensprekelijk vast maar aangenomen wordt dat de verschillende vormen een andere biobeschikbaarheid en mogelijk ook toxiciteit bezitten (MIRA, 2005d).



Figuur 1.3: De chemische structuur van links naar rechts PBDE, PBB, HBCD en TBBP-A (MIRA, 2005d).

I.4.2. Fysische eigenschappen

Het voordeel van gebromeerde vlamvertragers is hun hoge weerstand tegen zuren, basen, hitte, licht, reducerende en oxiderende bestanddelen. Deze weerstand wordt echter een probleem wanneer deze bestanddelen in het milieu worden geloosd. Verder kunnen bij verhitting of verbranding van PBB en PBDE bevattende materialen gebromeerde dibenzofuranen en dibenzodioxines gevormd worden die dezelfde toxische effecten hebben als gechloreerde dioxines (Watanabe & Tatsukawa, 1990; WHO, 1998). Zowel PBB’s als PBDE's hebben kenmerken gelijkaardig aan die van gerelateerde bestanddelen zoals PCB's, dibenzodioxinen en dibenzofuranen en polycyclische aromatische koolwaterstoffen (PAK's). Hun toxiciteit zal dus interfereren met de toxiciteit van deze gerelateerde bestanddelen (Pijnenburg *et al.*, 1995).

I.4.3. Toepassingen

De productie van gebromeerde vlamvertragers neemt nog steeds toe. Wereldwijd wordt er zo'n 200 000 ton per jaar geproduceerd. 56% wordt toegepast in de elektronicabranche, 31% in bouwmaterialen en 7% in textiel. In Europa wordt jaarlijks 138 000 ton aan tetrabromobisfenol-A (TBBP-A) geproduceerd, 8900 ton aan hexabromocyclododecaan (HBCD), 7500 ton aan decabroomdifenylether (decaBDE) en 660 ton aan penta- en OcBDE samen (BSEF, 2000).
Bronnen van blootstelling zijn, naast de industrie die verantwoordelijk is voor het produceren van gebromeerde vlamvertragers of producten die deze bestanddelen bevatten, verbrandingsovens, fabrieken die plastic en metaal van elektronische apparaten recycleren en stortplaatsen. Elektronische apparaten zoals tv's en computers zijn dan weer verantwoordelijk voor de emissie van gebromeerde vlamvertragers binnenshuis (Tamade *et al.*, 2002).

PentaBDE-mengsels worden voornamelijk aangewend in polyurethaanschuimen (vooral voor gebruik in wagens, openbare transportmiddelen en meubels). In zeer beperkte mate zou het ook gebruikt zijn in epoxyharsen, fenolharsen en onverzadigde polyesters. Het OcBDE-mengsel wordt voor 95% gebruikt in ABS (acetonitrile butadieen styreen) maar kent ook nog andere toepassingen. ABS vindt vnl. toepassing in elektronica en de auto-industrie. Zowel het penta- als octa-mengsel mogen vanaf 15 augustus 2004 niet langer worden gebruikt in Europa (EC, 2003). Het decaBDE-mengsel is echter in een recente risico inschattingsanalyse veilig verklaard en kan dus zonder beperkingen verder worden gebruikt. Deze studie heeft evenwel geen rekening gehouden met het feit dat de bestanddelen van het decaBDE-mengsel in het milieu kunnen worden omgevormd tot lager gebromeerde DE's (MIRA, 2005d).

Het decaBDE-mengsel wordt naast toepassingen in textiel vooral gebruikt in plastics (voornamelijk in HIPS (high–impact polystyreen; vnl. in elektronica en behuizing van tv's, computers, *etc*.), maar ook in PE (polyethyleen; vnl. in elektronica en verpakkingsmateriaal), PP (polypropyleen; elektronica, auto-industrie en constructiematerialen), PBT (polybutyleen tereftalaat; vnl. in elektronica), UPE (onverzadigde polyesters; vnl. in constructiematerialen en in de auto-industrie), EVA (ethyleen vinyl acetaat; schuimrubber, zeer breed toepassingsgebied), EPDM (ethyleen propyleen dieen monomeer; elastomeren) en andere engineering plastics. HBCD wordt vnl. gebruikt in polystyreen (vnl. in constructiematerialen zoals isolatiepanelen) en in textiel en meubels. De toepassing van TBBP-A ligt vooral in epoxyharsen (als reactieve vlamvertrager) voor de productie van platen voor gedrukte bedrading ("chips" voor elektronica) en daarnaast ook voor ABS en als tussenproduct in de bereiding van andere gebromeerde vlamvertragers (MIRA, 2005d).

I.4.4. Beleid

Gebromeerde vlamvertragers zijn opgenomen in de OESO-lijst (Organisatie voor Economische Samenwerking en Ontwikkeling) van potentieel hormoonverstorende stoffen (lijst B waarbij in-vitro effecten werden waargenomen). Binnen de OESO is sinds 1995 een vrijwillig initiatief operationeel met de industrie van de gebromeerde vlamvertragers. De Conventie voor de bescherming van het mariene milieu van de Noord-Oost Atlantische Oceaan (OSPAR) beschouwt gebromeerde vlamvertragers als prioritair te behandelen stoffen (OSPAR/MMC 1998, beschouwde stoffen zijn hier: polygebromeerde difenylethers, polygebromeerde bifenylen en hexabromocyclododecaan). Ook tetrabromobisfenol-A werd op OSPAR 2000 aan deze lijst toegevoegd. Op de vierde Noordzeeconferentie te Esbjerg in 1995 werd afgesproken dat de nodige aandacht moest geschonken worden aan de vervanging van deze stoffen. De gebromeerde difenylethers zijn als groep opgenomen in de lijst van prioritaire stoffen

van de Kaderrichtlijn Water. Pentabroomdifenylether wordt wél uit deze groep gelicht als prioritair gevaarlijke stof. Er bestaat een rapporteringplicht voor gebromeerde difenylethers in het kader van het European Pollutant Emission Register (IPPC-EPER): vanaf een lozing van 1 kg $jaar^{-1}$ dienen de gebromeerde difenylethers gerapporteerd te worden in EPER. De criteria voor het toekennen van Europese milieukeuren (ecolabelling) voor bijvoorbeeld textielproducten, computers en televisietoestellen bevatten beperkende bepalingen inzake het gebruik van sommige gebromeerde vlamvertragers. Recentelijk werd op Europees niveau aandacht geschonken aan de regulering van het gebruik van BFR’s (brominated flame retardants). Voor een aantal stoffen zijn risicoanalyses beschikbaar (pentaBDE, OcBDE en decaBDE) of in voorbereiding (HBCD en TBBP-A). Het gebruik van PBB’s werd al eerder verboden en vanaf 15 augustus 2004 zijn ook pentaBDE en octaBDE verboden (Richtlijn 2003/11/EC). Voor decaBDE, dat 75% van alle PBDE’s vertegenwoordigt, stelt de risicoanalyse dat verder onderzoek nodig is. Bovendien heeft de Europese Commissie een richtlijn uitgebracht (2002/95/EC) die de aanwezigheid van PBB’s en PBDE’s in nieuw elektrisch en elektronisch materiaal verbiedt vanaf 1 juli 2006 (De Bont & Van Larebeke, 2002).

I.5. Vluchtige organische componenten (VOC)

I.5.1. Chemische structuur

VOC’s zijn vluchtige organische componenten (o.a. benzeen, tolueen, xyleen). Organische chemische componenten bevatten minstens één koolstofatoom in hun moleculaire structuur (uitgezonderd: CO, CO_2, (bi)carbonaten, anorganische of minerale componenten).

I.5.2. Fysische eigenschappen

Het gaat om natuurlijke, kunstmatige en synthetische chemicaliën. Ze hebben een dampspanning van minstens 0,1 kPa bij normale temperatuur en druk en worden als "vluchtig" beschouwd als ze een bepaalde hoeveelheid dampen lozen bij kamer- of werktemperatuur. Dit is het geval voor een groot aantal onder hen. VOC's zijn zeer talrijk en worden in diverse beroepssectoren gebruikt, vnl. in oplosmiddelen. We vinden ze terug in drukkerijen, oppervlaktebehandeling (reiniging, ontvetting, coating, impregnatie, ...), droogkuis, lijmen, rubberbewerking, voeding (extractie, ...), pesticiden, geneesmiddelen, verven, inkten, kleefstoffen, enz.

I.5.3. Toepassingen

Met het gebruik van VOC's gaan veel risico's gepaard. Op het vlak van de gezondheid zijn talrijke acute (hoge concentraties) en chronische effecten (lage concentraties met herhaaldelijke en/of langdurige blootstellingen) mogelijk. Naargelang de aard van het product en de blootstellingweg kunnen verschillende doelorganen aangetast worden. Zo zijn er bv. carcinogene, mutagene, reprotoxische, neurotoxische, en hepatotoxische effecten.
Ook qua veiligheid zijn er zware risico's. VOC's branden en vooral hun dampen ontvlammen en ontploffen zelfs door contact met een warmtebron boven een bepaalde concentratie. Dit brand-/explosierisico is des te groter omdat deze dampen meestal zwaarder zijn dan lucht en over de grond sluipend circuleren totdat ze bv. een defect stopcontact of een kortsluiting tegenkomen.

Op milieuvlak liggen VOC's aan de oorsprong van zware verontreinigingproblemen, zoals fotochemische smog en troposferische ozon (inadembaar en irriterend, vooral in de zomer) of het broeikaseffect en de klimaatverwarming.

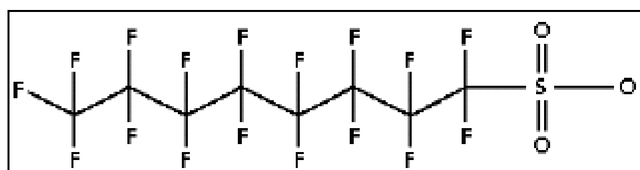
I.5.4. Beleid

Deze talrijke risico's verklaren de vermenigvuldiging van de reglementeringen. Een belangrijke richtlijn verscheen in het Publicatieblad van de EG nr. L85 van 29.3.1999: de nieuwe "VOC's II" of "Solventenrichtlijn" nr. 1999/13/EG. De tekst bepaalt o.a. de verbruik- en emissiedrempels, strikte streefdata (april 2001 voor nieuwe en 31 oktober 2007 voor bestaande installaties) en precieze reductiemethodes. Deze wettekst heeft een grote draagwijdte voor heel wat bedrijven. Ze zullen hun procedés en producten moeten herzien om de nieuwe grenswaarden na te leven en zo nog te kunnen functioneren. Wat veiligheid en gezondheid op het werk betreft, zal de wettelijke risicopreventie aanpak toegepast moeten worden: verwijdering van het risico via substitutie/vervanging, beperking van het risico (gesloten circuits, collectieve bescherming en tot slot individuele bescherming (www.prevent.be).

I.6. Perfluoroctaansulfonaat (PFOS)

I.6.1. Chemische structuur

Perfluorkoolwaterstoffen komen steeds in mengsels voor. De koolstofwaterstofverbindingen zijn vervangen door koolstoffluorverbindingen, die erg stabiel zijn (Figuur 1.4). De ketenlengte van het koolstofskelet kan verschillen (van 4 tot 10). Daarnaast kunnen ook metaalzouten (O^-M^+), vrije zuren (OH), sulfonylhaliden (X) en sulfonamiden (NH_2) voorkomen.
Van nature komen ongeveer 30 orgaanfluoriden voor, elk met slechts één fluoratoom in elke molecule (Hekster *et al*., 2003). De door de mens geproduceerde orgaanfluorverbindingen daarentegen bevatten meerdere fluoratomen per molecule.



Figuur 1.4: De chemische structuur van PFOS (Bron: EB&T, Universiteit Antwerpen).

I.6.2. Fysische structuur

De directe chemische verbinding tussen het koolstof en de fluor is zeer kort en zeer sterk, wat PFOS hoog resistent maakt tegen chemische, biologische en thermische degradatie (So *et al*., 2004). Het zijn deze karakteristieken samen met hun ongebruikelijke oplosbaarheideigenschappen die de perfluorverbindingen gedurende de laatste 50 jaren zo aantrekkelijk gemaakt hebben in de handel (Paustenbach *et al*., 2005). Echter zijn het ook deze verbindingen die de perfluor chemicaliën (PFC's) persistent maken eenmaal ze in het milieu vrijgesteld zijn door productie of verwijderingoperaties of gewoon gedurende de bruikbare levensduur van een product (Key *et al*., 1997).

Zoals eerder gezegd hebben PFC's naast hun hoge stabiliteit ook een ongebruikelijke oplosbaarheid en oppervlakte actieve eigenschappen. De chemische eigenschappen van vele PFC's betekenen dat ze een relatief kleine oplosbaarheid hebben in zowel water als olie, unieke eigenschappen die gemaakt hebben dat ze wijdverspreid gebruikt worden als water, vet en vlekafstotende lagen op textiel en papierproducten, als speciale solventen en surfactanten in de industrie en als componenten van cosmetische en plastic producten (OESO, 2002; Hekster *et al*., 2003). Hun resistentie tegen breuken zelfs bij zeer hoge temperaturen heeft geleid tot het gebruik als brandbestrijdende schuimen en in smeermiddelen voor toepassingen bij hoge temperaturen (OSPAR, 2006).

I.6.3. Toepassingen

Deze organochemicaliën worden gebruikt in een eindeloze lijst van toepassingen: van oppervlaktebehandeling van tapijten, leder en textiel tot vlek- en waterafstotende producten voor de behandeling van papier (bijvoorbeeld Scotchguard). Gespecialiseerde toepassingen omvatten polymeren (zoals Teflon), vuurbestrijdingsschuimen, surfactanten voor de mijnbouw en oliewinning, onderdrukkers van zure nevel in de productie van metalen platen en elektrische etsbaden. Basische schoonmaakmiddelen, polijstmiddelen voor vloeren, schoonmaakmiddelen in de tandheelkunde, fotografische films, shampoos, insecticides, adhesieven (bijvoorbeeld Post-It briefjes), waterafstotend en vetvrij papier, en oppervlaktebehandeling van kookgerei (bijvoorbeeld Tefal) zijn de meest gangbare huishoudelijke toepassingen (Giesy & Kannan, 2001; Hekster *et al*., 2002).

I.6.4. Beleid

In 2000 heeft 3M, een van de producenten van PFOS in de Verenigde Staten, vrijwillig besloten om wereldwijd de productie van PFOS te verminderen en uiteindelijk volledig uit te bannen (3M Company, 2002). In de Verenigde Staten bestaat er nu een SNUR (Significant New Use Rule), wat de overheid de mogelijkheid verschaft om elke nieuwe toepassing waarin PFOS verwerkt zijn, te evalueren. Het feit dat we geconfronteerd worden met een nieuwe klasse van persistente chemicaliën waarvoor weinig geweten is over verspreiding en toxiciteit heeft de bezorgdheid van beleidsmakers, producenten en consumenten in de Europese Gemeenschap doen toenemen. Voorlopig zijn er echter op Europees of Belgisch niveau nog steeds geen wettelijke normen. Er wordt verwacht dat de Europese Commissie in het najaar van 2005 een draft zal klaar hebben aangaande restricties voor het op de markt brengen en gebruiken van PFOS. Deze draft kadert in Directive 76/769/EEC. Ook hebben Groot-Brittannië en Zweden voorstellen ingediend bij de Europese Commissie voor nationale regelgeving omtrent PFOS maar deze initiatieven worden bevroren omdat er een regelgeving op Europees niveau in wording is (restrictions on marketing and use, zie begin paragraaf) (MIRA, 2005e).

II. Europese paling als bio-indicator

II.1. Europese paling

De Europese paling (*Anguilla anguilla* L.) is een wijdverspreide katadrome vissoort waarvan de hele populatie danig achteruit gegaan is in het grootste deel van zijn verspreidingsgebied. Internationaal wordt gesteld dat de soort zich buiten de biologische veiligheidsgrenzen bevindt. Mogelijke oorzaken van deze achteruitgang zijn divers. Zowel antropogene factoren (vb. visserij, habitatverlies, migratiebarrières, verontreiniging, klimaatverandering) als natuurlijke processen (vb. overdracht van parasieten en ziekten, predatie) kunnen bijgedragen hebben tot deze achteruitgang (ICES, 2003). Momenteel is de EC maatregelen aan het voorbereiden teneinde de palingstock te herstellen (COM 2003, 573 final en Council Regulation establishing measures for the recovery of the stock of European eel, COM 2005, 472 final) zijnde de ontwikkeling van internationale palingherstelplannen. Europese paling is recent ook toegevoegd aan de UN CITES Appendix II lijst en werd gerangschikt als “critically endangered” op de Rode Lijst soorten die door de World Conservation Union opgesteld werd.

De rekrutering van Europese paling (de intrek van glasaal) is ineengestort sinds begin de jaren 1980. De intrek van glasaal is zelfs met 99% achteruitgegaan (Anonymous, 2003a). De potentiële oorzaken voor deze achteruitgang kunnen in twee grote groepen verdeeld worden:

1) kwantitatieve oorzaken zoals klimaatverandering, visserij, habitatreductie en migratiebarrières
2) kwalitatieve oorzaken zoals onvoldoende vetreserves, virusinfecties (EVEX), parasietinfecties (*Anguillicola crassus*) en contaminatie (PCB’s) (Palstra *et al.*, 2006).

Het maturatieproces en een goede fysiologische conditie van de zilverpalingen die onze riviersystemen verlaten zijn een eerste vereiste voor een succesvolle migratie van de Europese wateren naar de voortplantingsgronden bij de Sargassozee en zijn essentieel voor de reproductie. De energievoorraden moeten volstaan om de 5 à 6000 km lange reis aan te kunnen en om volgroeide gonaden met een goede kwaliteit aan gameten te ontwikkelen. De totale vetgehaltes van zowel mannelijke als vrouwelijke palingen moeten minstens 15% bedragen voor een succesvolle migratie (Van Ginneken *et al.*, 2000, 2005a) en meer dan 20% voor een goed reproductievermogen (Durif *et al.*, 2006).

Recente wetenschappelijke data (WG EEL, 2006) wijzen erop dat de aanwezigheid van vervuilende stoffen in zilverpaling een belangrijke en onderschatte oorzaak kan zijn in de achteruitgang van de soort. Deze resultaten (van den Thillart *et al*. 2005; Palstra *et al.*, 2005, 2006) suggereren ook dat de huidige gonadale niveaus van dioxineachtige contaminanten, met inbegrip van PCB’s in palingen de normale embryonale ontwikkeling kunnen schaden. PCB’s en anderen contaminanten kunnen bijgedragen hebben tot de achteruitgang van palingrekrutering die sinds 1980 gezien wordt. Zo worden gebromeerde vlamvertragers in paling aangetroffen (Belpaire *et al.*, 2002; Morris *et al.*, 2004). Uit genetisch onderzoek van Vlaamse paling (Maes *et al.*, 2005) blijkt er een significant negatieve correlatie te bestaan tussen vervuiling door zware metalen en conditie. Uit het palingpolluentenmeetnet blijkt bovendien dat er zeer grote variatie bestaat in vervuiling van de paling afhankelijk van het meetstation, met voor sommige stoffen extreem hoge waarden (Goemans *et al.*, 2003; Goemans & Belpaire, 2004).

II.2. Europese paling als bio-indicator

Er zijn een aantal ecologische en fysiologische eigenschappen die ervoor zorgen dat paling gevoelig is voor lipofiele polluenten en deze sterk accumuleert. De soort kan aldus gebruikt worden als bio-indicator voor het detecteren van chemicaliën in het milieu. Bovendien geeft het monitoren van verontreinigende stoffen in paling een beeld van de scheikundige toestand van de Vlaamse wateren en is dus ook een indicator van milieudruk op de volksgezondheid. Het levert gegevens over de hygiënische controle van visserijproducten binnen de veiligheidsreglementeringen voor humane voeding en het monitoren van de palingkwaliteit binnen de vereisten van het internationaal herstelplan van de paling (Belpaire & Goemans, 2007). Het is hoe dan ook duidelijk dat een adequaat biomonitororganisme aan meerdere condities moet voldoen. Deze vereisten voor paling worden opgelijst en bediscussieerd in Tabel 2.1.

Een eerste belangrijke factor is dat de bio-indicator over een grote bioaccumulatie capaciteit beschikt. Door het hoog *vetgehalte* van paling, tot meer dan 30% van het lichaamsgewicht (cf. bij karper is dit maar 3%), accumuleren lipofiele polluenten (PCB's, pesticiden,...) gemakkelijk in paling. Zelfs bij een zeer lage contaminatiegraad kan men sporen terugvinden in zijn spierweefsel (Mason & Barak, 1990). De graad van accumulatie is polluentafhankelijk. Deze neemt toe naarmate de hydrofobiciteit van de polluent toeneemt (Bruggeman *et al.*, 1984 (fide: Robinet & Feunteun, 2002)).

Ten tweede heeft paling een *lange sedentaire benthische levenswijze* als gele paling in de sedimentlaag van de vervuilde binnenwateren waardoor hij veel in contact komt met de in de bodem en het slib opgeslagen verontreinigingen. Op deze manier kan paling jarenlang allerlei polluenten accumuleren. Concentraties van ΣPCB's en DDT en zijn metabolieten nemen immers toe met de leeftijd (lengte, gewicht). Het verband is het best zichtbaar wanneer de berekeningen uitgevoerd worden op basis van versgewicht (Larsson *et al*., 1991).
Vissen nemen polluenten op vanuit het water en vanuit voedsel (vb. Spigarelli *et al.*, 1983). De opname uit het water is een snel proces – een kwestie van uren of dagen afhankelijk van de chemische eigenschappen van de polluent (Pizza & O'Connor, 1983). De opname uit voedsel daarentegen is een veel trager proces en hydrofobe polluenten kunnen gedurende jaren accumuleren (Bengtsson, 1980; Spigarelli *et al*., 1983). Ten gevolge hiervan is de blootstellingtijd aan polluenten (leeftijd van de vis) een bepalende parameter bij het opnameproces. Voor palingen die 12 jaar zijn en ouder is de grootste toename in ΣPCB's en ΣDDT's ($ng.g^{-1}$ versgewicht) geregistreerd. Van 6 tot 12 jaar is de opname van de polluenten lager en neemt die gradueel toe. De toename van de polluentenopname vanaf de leeftijd van 12 jaar kan te wijten zijn aan de afgenomen groeisnelheid (Larsson *et al*., 1991).

Om een betrouwbaar beeld te geven van de vervuilingsgraad op een specifieke locatie is het belangrijk dat de soort resident (sedentair) is. Paling vertoont een expliciet homing gedrag d.i. het steeds terugkeren naar een vaste plaats en zijn foerageerbewegingen zijn beperkt tot een paar honderd meter. De meeste palingsoorten vertonen ogenschijnlijk dit gedrag (*A. anguilla*: Baras *et al.*, 1998; Lafaille *et al.*, 2005; *A. rostrata*: Oliviera, 1997; Goodwin, 1999; *A. australis*: Jellyman *et al.*, 1996; *A. dieffenbachi*: Beentjes & Jellyman, 2003; *A. japonica*: Aoyama *et al.*, 2002). Ook in getijdenestuaria is het homing gedrag duidelijk aanwezig al kan de home range groter zijn dan in zoetwater habitatten (Parker, 1995) en er kunnen ook seizoensgebonden bewegingen optreden (Hammond, 2003). Ook het voorkomen van zogenaamde 'nomaden' werd gerapporteerd (Feunteun *et al.*, 2003). Nomaden zijn palingen die zich niet op een bepaalde plaats gesetteld hebben. Het kunnen jonge palingen zijn die na een winterstop verder stroomopwaarts trekken al lijkt het erop dat palingen van om het even welke grootte of leeftijd stroomopwaarts kunnen trekken (Feunteun *et al.*, 2003). Hun gedrag kan intrinsiek

zijn (nog niet gerapporteerd), een gevolg van het veranderen van habitat omwille van hun grootte (Feunteun *et al.*, 2003; Glova, 1998; Baisez *et al*., 2000; Baisez, 2001), of ten gevolge van veranderingen in milieucondities zoals vb. droogte, overstromingen, getijden, temperatuur, waterpeil en antropogene verstoring (Parker, 1995; Adam, 1997; Lamothe *et al*., 2000). Omwille van de migratie activiteit van paling gedurende het zilverstadium, kan paling enkel gedurende de gele palingfase gebruikt worden als bio-indicator.

Ten derde bekleedt paling een *hoog trofisch niveau in de aquatische voedselketen* en accumuleert hierdoor grote hoeveelheden contaminanten. Deze accumulatie vindt plaats omdat organismen vb. PCB's niet of zeer langzaam metaboliseren. Organismen bezitten enzymsystemen die lichaamsvreemde stoffen omvormen en uitscheiden, ook wel het mono-oxygenase systeem genoemd. De enzymen van dit systeem - waarvan de hoogste concentraties in de lever worden gevonden - en verscheidene conjugerende enzymen, helpen dieren verontreinigingen te ontgiften en te verwijderen uit de weefsels en uit te scheiden naar het omringende milieu (Bruijs *et al.*, 2002). Naast de blootstellingtijd kan ook een verandering in dieet (door de leeftijd) een toename aan polluentconcentraties bij oudere vissen verklaren. Jonge palingen voeden zich hoofdzakelijk met zoöbenthos. Wanneer de paling groeit, zal vis een groter deel gaan uitmaken van zijn dieet (Tesch, 1977).

Een factor in de *voortplantingsbiologie* van de paling maakt tevens dat deze soort extra gevoelig is voor bioaccumulatie van lipofiele polluenten. Semelpare (slechts één voortplantingscyclus in hun leven) soorten (zoals paling) gebruiken het meeste van hun lichaamsvet voor de voortplanting, terwijl iteropare (meerdere voortplantingscycli in hun leven) soorten tijdens de reproductie hun vetreserves in mindere mate aanspreken. De meeste soorten zijn iteropaar en volwassen organismen kunnen geaccumuleerde lipofiele producten elimineren door ze door te geven aan de gameten tijdens het paaien. Doordat palingen echter slechts éénmaal paaien hebben ze dus geen verdedigingsmechanisme tegen polluentaccumulatie zoals iteropare soorten (Robinet & Feunteun, 2002). Het gevolg is dat de polluentenaccumulatie gedurende hun hele leven doorgaat en dit niet alleen bij de mannelijke individuen maar ook bij de vrouwtjes. Palingen beschikken bovendien over grote vetreserves zodat de polluentconcentraties hoger zijn dan bij de meeste andere vissen. Daarbij komt dat palingen relatief ongevoelig zijn voor een slechte waterkwaliteit en ze vaak blootgesteld worden aan hoge concentraties persistente polluenten in industriegebieden. Wanneer we al deze factoren combineren met de lange afstandmigratie waarbij de vetreserves als energievoorraad gebruikt worden, lijkt het erop dat paling een soort is die zwaar blootgesteld wordt aan polluenten. Wanneer de vetreserves opgebruikt worden, komen de polluenten vrij in de bloedbaan en kunnen ze naar de vitale en de voortplantingsorganen getransporteerd worden (Larsson *et al*., 1991). Van zulke situaties is reeds aangetoond dat ze dodelijk zijn voor vogels; wanneer vogels vasten, worden de persistente polluenten vrijgesteld uit de vetreserves en vergiftigen het individu (Krom, 1986). Een gelijkaardige situatie kan het geval zijn voor migrerende zilverpalingen en kan een oorzaak zijn voor de afnemende palingvangsten in Europa gedurende de laatste tientallen jaren (Larsson *et al*., 1991). Het meten van deze polluenten in (zilver)paling wordt dan ook aangemoedigd door WG EEL (2006) en STECF (2006) en is dus een graadmeter voor de kwaliteit van de toekomstige kweekdieren.

Een bijkomend voordeel van meten in paling is dat polluenten, zoals lindaan, ook buiten hun *toepassingsperiode* in verhoogde concentraties in paling worden aangetroffen, in tegenstelling tot metingen in andere compartimenten (vb. water). Deze typische karakteristieken garanderen het gebruik van paling als bio-indicator voor de aanwezigheid van schadelijke stoffen in het milieu en in het bijzonder in substanties met een lage oplosbaarheid in water. Men gaat ervan uit dat palingweefsel een indicatie geeft van de mate van blootstelling van schadelijke stoffen in het milieu en dat zijn vetgehalte het ver-

vuilingniveau van prooisoorten, oppervlaktewateren en sedimenten weerspiegelt (Maes *et al*., in press.).

Een ander belangrijk voordeel van het gebruik van paling als bio-indicator voor schadelijke stoffen in het milieu is gerelateerd aan de *volksgezondheid* omwille van de consumptie van paling door de mens. Palingconsumptie maakt immers dat de mens blootgesteld wordt aan persistente organische chemicaliën en zware metalen (Harrad & Smith, 1999; Bilau *et al*., in prep.). Veel van deze polluenten worden als potentiële carcinogenen beschouwd en van sommige wordt verondersteld dat ze het metabolisme en de endocriene functies van het menselijk lichaam verstoren (European Environment Agency, 2005). Ook zijn er normen opgesteld voor deze stoffen o.a. voor Cd, Hg, Pb, ΣPCB's, dioxines, …

Migrerende palingen eten niet en zijn om de migratie en de oöcytontwikkeling te volbrengen dus volledig afhankelijk van hun vetreserves die als energiebron fungeren. Gedurende de 5 à 6000 km lange migratie naar de Sargassozee, ziet de bestemming van de gemobiliseerde vetreserves van de semelpare paling er als volgt uit: 39% wordt gebruikt als energiebron (van Ginneken & van den Thillart, 2000; van den Thillart *et al*., 2004; van Ginneken *et al*., 2005a; Palstra *et al.*, unpublished data) en 28% wordt geïncorporeerd in de rijpende oöcyten (Palstra *et al*., 2006 and unpublished data). Door de vetmetabolisatie zullen de interne concentraties aan PCB's toenemen (door vrijstelling uit de vetreserves) en zal zo het risico op toxische effecten ook toenemen.

Naast de vele voordelen zijn er ook een aantal nadelen verbonden aan het gebruik van paling als bio-indicator voor verontreinigende stoffen. Een eerste nadeel is dat de soort niet overal aanwezig is. Een ander nadeel is dat de laboratoriumonderzoeken enkel op dode exemplaren uitgevoerd kunnen worden. Ook is leeftijdsbepaling moeilijk. Alhoewel paling een ideale biomonitor is voor tal van verontreinigende stoffen is hij dit niet voor endocrien verstorende effecten (vb. VTG). Deze laatste kunnen enkel gemeten worden in volwassen exemplaren en paling wordt pas volledig volwassen tijdens zijn migratie naar de voortplantingsgebieden. Ook kan men zich vragen stellen omtrent de noodzaak van het systematisch doden van paling voor het monitoren van verontreinigende stoffen terwijl de soort zich buiten zijn biologische veiligheidsgrenzen bevindt. Anderzijds kan door paling te gebruiken als graadmeter en de in paling aangetroffen concentraties te haneteren als streefnorm voor de chemische toestand zal dit de soort effectief ten goede komen.

Tabel 2.1: Vereisten voor een adequate bio-indicator voor het monitoren van verontreinigende stoffen in aquatische omgevingen (Belpaire & Goemans, 2007).

Vereisten		Paling
Bioaccumulatie capaciteit	Ecologische karakteristieken, habitat, trofisch niveau, … zijn belangrijke aspecten die de bioaccumulatie capaciteit van een organisme bepalen.	+ Palingen zijn carnivore bentische vissen die predateren op insectenlarven, wormen, Crustaceeën slakken, mosselen en vis, in het bijzonder kleine bodembewonende soorten. Dit gedrag resulteert in een hoge bioaccumulatie van toxische residu's. - Er kunnen individuele verschillen optreden door trofische specialisatie van sommige individuen (Belpaire *et al*., 1992; Dörner *et al*.,2006). Afhankelijk van de lokale biotische condities (vb. de biomassa aan chironomiden) kunnen palingen verschillende trofische posities bekleden (Dörner *et al*., 2006).
Biobeschikbaarheid	De bio-indicator moet een	+ Palingen zijn carnivore predatoren (zie hier-

	hoog trofisch niveau bekleden om informatie over de biobeschikbaarheid van chemicaliën te bekomen.	boven).
Range van de meetbare chemicaliën	De range aan meetbare chemicaliën moet zo groot mogelijk zijn.	+ Paling heeft reeds bewezen een goede indicatorsoort te zijn voor een grote waaier aan chemische componenten, waaronder PCB's, organochloorpesticiden, zware metalen (Goemans *et al.*, 2003), gebromeerde vlamvertragers (Belpaire *et al.*, 2003; Morris *et al.*, 2004; vluchtige organische polluenten (Roose *et al.*, 2003), dioxinen, perfluor chemicaliën (Hoff *et al*, 2005; Santillo *et al.*, 2006), metallothioneïnes (Langston *et al.*, 2002) en polycyclische aromatische componenten (Ruddock *et al.*, 2003). - Gele paling is echter geen aangewezen bio-indicator voor endocriene verstoorders die gemeten worden via het vitellogenine (Versonnen *et al.*, 2004).
Internationaal aanvaarde monitorsoort	De lidstaten gebruiken verschillende organismen als bio-indicator: microbiële assemblages,mollusken, algen, andere vissoorten (forel, grondel, …), visparasieten, invertebraten, aquatische macrofyten, watervogels, … Er is zeker nood aan harmonisatie, een gemeenschappelijke benadering en strategie voor het opsporen van chemicaliën in aquatische biota.	+ Palingen zijn reeds over de hele wereld gebruikt als chemische bio-indicator. Studies over de Europese paling zijn in Europa op lokale of nationale schaal voorhanden in Nederland (Pieters, 1991; Hendriks & Pieters, 1993; de Boer & Hagel, 1994; Pieters *et al.*, 2004), Frankrijk (Batty *et al.*, 1996; Roche *et al.*, 2002; 2003; Goursolle, 2002), Finland (Tulonen & Vuorinen, 1996), Zweden (Van Leeuwen *et al.*, 2002; Ankarberg *et al.*, 2004), Verenigd Koninkrijk (Mason & Barak, 1990; Mason, 1993; Weatherley *et al.*, 1997), Spanje (Usero *et al*, 2003), Italië (Bressa *et al*, 1995; 1997; Agradi *et al.*, 2000; Corsi *et al.*, 2005), Duitsland (Fromme *et al.*, 1999; Wiesmüller & Schlatterer, 1999; Reincke *et al.*, 2000; Lehmann *et al.*, 2005) en België (Wallonië: Thomé *et al.*, 2004 en Vlaanderen: Goemans *et al.*, 2003; Goemans & Belpaire, 2004; Roose *et al.*, 2003; Morris *et al.,* 2004; Hoff *et al.,* 2005; Maes *et al.*, 2005). Er bestaat reeds een monitoringsnetwerk sinds 1977 in Nederland en sinds 1994 in België. Andere wijdverspreide studies waarbij paling als bio-indicator gebruikt werd voor de aanwezigheid van gebromeerde vlamvertragers en PCB's in waterlopen en meren in 10 Europese landen (Santillo *et al.,* 2005) en voor perfluor chemicalien (11 landen (Santillo *et al.,* 2006)) werden door Greenpeace gerapporteerd.
Seizoensgebonden veranderingen	Geen of minimale seizoenale veranderingen door metabolische activiteit gerelateerd aan de reproductie of seizoenale milieuveranderingen in de jaarcycli.	+ Door de afwezigheid van een jaarlijkse reproductie cyclus treden er geen aan de reproductie gerelateerde seizoenale metabolische veranderingen op. - Desalniettemin kan het vetgehalte fluctueren doorheen het jaar (van Leeuwen *et al.*, 2002).

Migratiegedrag	De indicatorsoort moet zeer resident zijn om een fingerprint te leveren van de locale vervuilingsgraad.	+ Gele paling heeft een expliciet homing gedrag en zijn foerageerbewegingen zijn meestal beperkt tot een paar honderd meters. De meeste palingsoorten vertonen dit gedrag (*A. anguilla*: Baras *et al.*, 1998; Lafaille *et al.*, 2005; *A. rostrata*: Oliviera, 1997; Goodwin, 1999; *A. australis*: Jellyman *et al.*, 1996; *A. dieffenbachi*: Beentjes & Jellyman, 2003; *A. japonica*: Aoyama *et al.*, 2002). De fingerprint methode werd reeds aangetoond (Castonguay *et al.*, 1989; Belpaire *et al*., 1999). - Ook in getijdenestuaria is het homing gedrag duidelijk aanwezig al kan de home range groter zijn dan in zoetwater habitatten (Parker, 1995) en er kunnen ook seizoensgebonden bewegingen optreden (Hammond, 2003). De waarde van paling als 'fingerprint' werd reeds aangetoond (Castonguay *et al*., 1989, Belpaire *et al.,* 1999). Ook het voorkomen van zogenaamde 'nomaden' werd gerapporteerd (Feunteun *et al.*, 2003). Omwille van de migratie-activiteit van paling gedurende het zilverstadium, kan paling enkel gedurende de gele palingfase gebruikt worden als bio-indicator.
Voorkomen	De soort moet wijdverspreid zijn en in een brede waaier aan aquatische habitatten voorkomen. In het kader van de WFD-context is een algemene Europese verspreiding aanbevolen.	+ Palingen komen wijdverspreid voor en worden in bijna alle aquatische milieus aangetroffen. Ze komen voor in zoet-, brak- en kustwater in bijna heel Europa (zelfs in Noord-Scandinavië en van de Azoren tot de Oost mediterraan gebieden) en in Afrika. In Vlaanderen is paling de derde meest verspreide vissoort. - Het voorkomen van paling in stroomopwaarste gedeelten is sterk achteruitgegaan ten gevolge van migratiebarrières. Herstelmaatregelen zoals herbepoting compenseren dit gedeeltelijk.
Grootte	Het organisme moet voldoende groot zijn om adequate analyses toe te laten.	+ De beoogde lengte is 40 cm wat overeenkomt met een gewicht van ca. 100 g, en wat voldoende groot is om het palingweefsel te verdelen voor de verschillende analyses en laboratoria.
Standaardisatie	Standaardisatie op lengte en/of leeftijd is aanbevolen.	+ Standaardisatie voor de palinglengte is rond 40 cm. - Er kan wel groei heterogeniteit optreden.
Fysiologische eigenschappen	Naast grootte zullen fysiologische karakteristieken zoals een hoog vetgehalte de analyse van (hoofdzakelijk vetoplosbare) substanties vergemakkelijken.	+ Paling heeft extreem hoge vetgehalten (gemiddelde voor Vlaamse paling: 14,7%, N=1164, Goemans *et al*., 2003). - Heterogeniteit in vetgehalten tussen de individuen en locaties kan optreden.
Normatief kader	Evaluatie procedures, risicoanalyses, beslissingsbomen voor beheer, … zijn afhan-	+ Op basis van distributie analyses werden in Vlaanderen referentiewaarden voor palingen voorgesteld voor PCB's, organochloor pestici-

	kelijk van de beschikbaarheid over normatieve waarden zoals referentiewaarden, doelwaarden, actie drempelwaarden, consumtiestandaarden, *etc*.	den (OCP's) en zware metalen (Goemans *et al*., 2003; Belpaire & Goemans, 2004). Ook in Nederland bestaan referentiewaarden (Hendriks & Pieters, 1993) evenals drempelwaarden. In veel landen zijn nationale en EU consumptiestandaarden van kracht of in ontwikkeling. - Voor vele stoffen ontbreken nog referentiewaarden.
Levensgeschiedenis	De soort moet voldoende lang leven zodat hij in staat is om toevallige substanties te accumuleren.	+ Paling brengt 5 tot 18 jaren door in de binnen- en de kustwateren.
Robuuste soort	Het is essentieel dat contaminanten ook in (zwaar) verontreinigde waters gemonitord kunnen worden met behulp van de indicatorsoort; daarom moet de soort zeer resistent zijn aan milieudegradatie.	+ Paling is vrij resistent tegen een achteruitgang van de waterkwaliteit en kan tegen lage zuurstofwaarden en hoge eutroficatiewaarden. - Paling is gevoelig voor verstoringen in de structuurkwaliteit maar hun aanwezigheid wordt in stand gehouden door herbepotingen.
Multipele indicator	Het gelijktijdig gebruik van één indicator voor verschillenden doeleinden is een economisch voordeel (kosten efficiëntie voordeel).	+ Het kiezen van paling als chemische indicatorsoort biedt drievoudige voordelen: 1. monitoring van de gezondheids- en chemische toestand van het milieu (nationaal en WFD-niveau) 2. monitoring van de humane voedselveiligheid en hygiënische controle van visserijproducten 3. monitoring van paling (paai) kwaliteit binnen de vereisten van het internationaal herstelplan paling en het nationaal palingbeheerplan (STECF, 2006).

III. Het Vlaamse palingpolluentenmeetnet

België en in het bijzonder Vlaanderen heeft te maken met substantiële milieuproblemen. Ten gevolge hiervan scoort ons land slecht in internationale studies. Gebaseerd op een recent ingestelde milieuperformantie index (environmental performance index; Esty *et al.*, 2006), scoort België 39^{e} op wereldschaal, laatste in de EU-25 schaal en 26^{e} van de 29 OESO-lidstaten (Organisation for Economic Cooperation and Development) (Maes *et al.*, in press). De milieuproblemen in Vlaanderen zijn te wijten aan een hoge populatiedensiteit gekoppeld aan een historisch gebrek aan juist landgebruik. Het landschap wordt gekenmerkt door een afwisselend patroon van verstedelijking, natuur, landbouw en industrie. De hoge populatiedensiteit, de intensieve veeteelt en de economische ontwikkeling van industrieën zorgen voor een hoge milieudruk terwijl op hetzelfde moment de sterke versnippering van het landschap de mogelijkheden om doelgerichte maatregelen toe te passen en aan effectief milieubeleid te doen drastisch beperken (Maes *et al.*, in press). Maes *et al.* (in press) bekeken de trend en de evolutie van pollutie in paling uit Vlaamse binnenwateren. Hun resultaten worden gebruikt om inzicht te geven in de verontreiniging van paling uit Vlaanderen op basis van gegevens van het Vlaamse palingpolluentenmeetnet.

Het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek (INBO), het voormalige Instituut voor Bosbouw en Wildbeheer (IBW), heeft in dit kader een meetnet voor de verspreiding van polluenten op openbare waters in Vlaanderen uitgebouwd waarin paling als bio-indicator gebruikt wordt. De bedoeling van het polluentenmeetnet is een gebiedsdekkend beeld te krijgen van de kwaliteit van openbare waters, zowel stromende waters als kanalen, afgesloten waters als polderwaterlopen. De keuze van de te bemonsteren waters gebeurde op basis van de lijst met openbare (vis)waters zoals vermeld in Vandenabeele *et al.* (1998). Bij de keuze van de locaties werd er getracht om tot een overeenstemming te komen met het waterbodemmeetnet van de Vlaamse Milieumaatschappij (VMM). Anderzijds is er ook een koppeling met het Meetnet Zoetwatervis (logistiek). Tevens werd er besloten om op kanalen en grotere waterlopen iedere 10 à 15 km een locatie vast te leggen. Vanaf 2001 werden zoveel mogelijk waters en locaties waarvan reeds informatie beschikbaar was opnieuw bemonsterd om zo op middellange termijn een beeld te verkrijgen van een mogelijke evolutie van de vervuiling in de Vlaamse oppervlaktewateren (Goemans *et al.*, 2003).

Tussen 1994 en 2006 werden meer dan 2940 palingen afkomstig van 365 meetplaatsen (Figuur 3.1) onderzocht op de aanwezigheid van ca. 100 chemicaliën waaronder PCB's, organochloor pesticiden en zware metalen. Op een selectie van meetplaatsen werden projectmatig gebromeerde vlamvertragers, vluchtige organische stoffen (VOC's), endocriene verstoorders, dioxinen, perfluoroctaansulfonaat (PFOS), methallothioneïnes en polycyclische aromatische componenten gemeten (Tabel 3.1). De resultaten werden in verschillende rapporten gerapporteerd (Belpaire *et al*., 2001; Belpaire *et al*., 2003; Goemans *et al*., 2003; Roose *et al.*, 2003; Goemans & Belpaire, 2004; Morris *et al*., 2004; van Campenhout, 2004; Versonnen *et al.*, 2004; Hoff *et al*., 2005; Maes *et al*., 2005). Deze serie onderzochte stoffen bevat slechts een kleine fractie (minder dan 0,5%) van de meer dan 30 000 chemicaliën die regelmatig in Europa verhandeld worden. Het onderzoek naar de aanwezigheid van zware metalen gebeurt door het Centrum voor Onderzoek in Diergeneeskunde en Agrochemie (CODA, Tervuren) en het Departement voor Zeevisserij (DVZ, Oostende) onderzoekt de aanwezigheid van verscheidene lipofiele polluenten (Goemans *et al.*, 2003).

Om de concentratieniveaus van verontreinigende stoffen in paling op verschillende locaties met elkaar te kunnen vergelijken is standaardisatie van de bemonsteringen en palingen noodzakelijk. Bij de start van het palingpolluentenmeetnet werd er besloten om per locatie tien palingen met een lengte tussen 35-45 cm mee te nemen. Door beperkingen op het terrein heeft men echter dit lengte-interval moeten uitbreiden naar 30-50 cm. Naast de standaardafstand voor visbestandopnames zoals weergegeven in Van Thuyne & Belpaire (1997) moest er in veel gevallen immers doorgevist worden op paling om te proberen aan het vooropgestelde aantal te geraken.

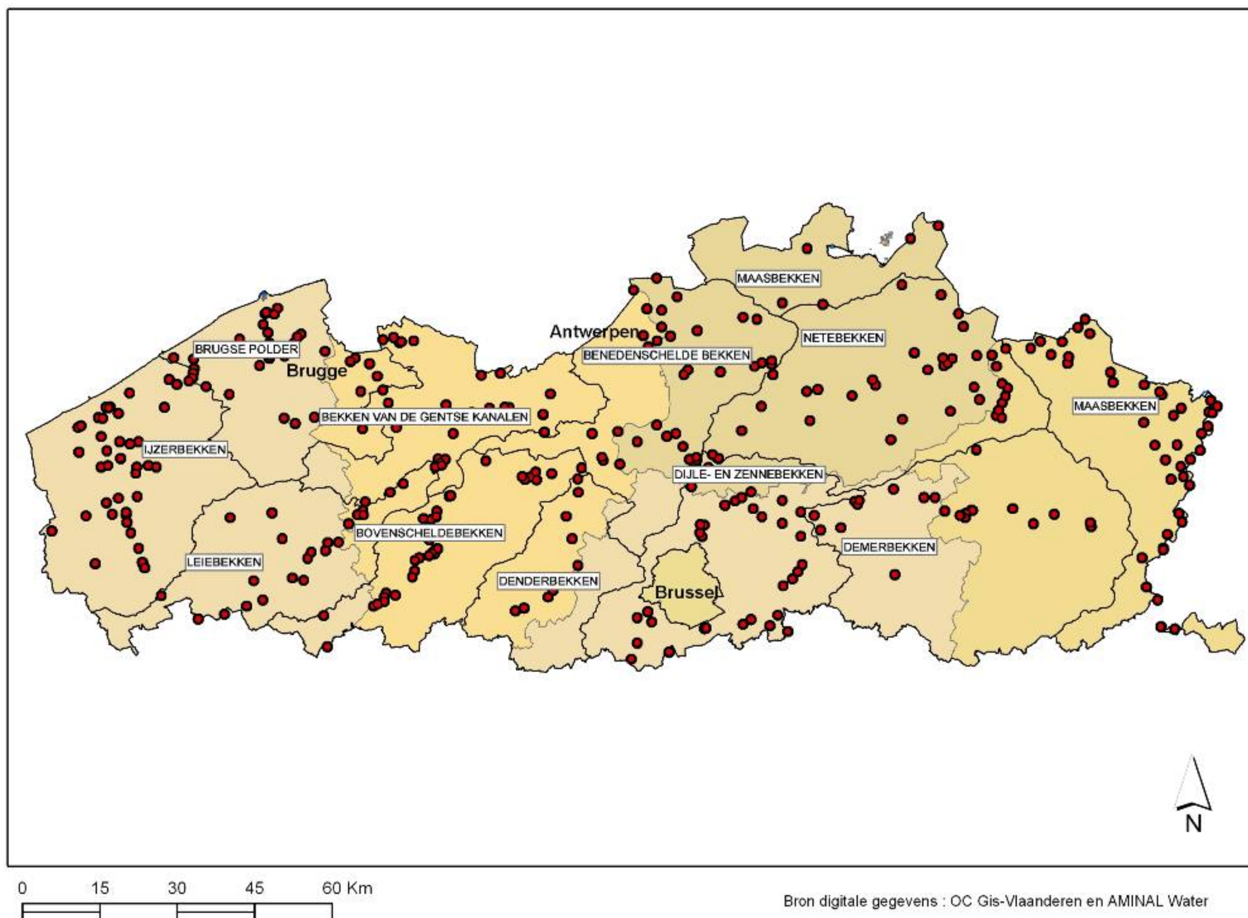
Vanaf 2000 werd geopteerd voor de lengteklasse 30-50 cm omdat hierin beide geslachten vertegenwoordigd zijn, deze palingen het meest gegeerd zijn voor consumptie en omdat ze een vergelijkbare blootstellingduur hebben. Randvoorwaarde om een beeld te krijgen van de lokale vervuiling is uiteraard dat het om een paling gaat in het gele-palingstadium (sedentair) en het dus geen trekpaling (zilverpaling) is.

Tijdens elke afvissing worden eveneens een aantal variabelen gemeten: pH, zuurstofgehalte, watertemperatuur, conductiviteit, stroomsnelheid, breedte van de waterloop. Ook de abiotische factoren, eigen aan de locatie worden genoteerd. Er wordt een schets van de bevissingsplaats gemaakt waarop opvallende kenmerken worden aangeduid en de GPS-coördinaten worden opgenomen. Deze kenmerken kunnen immers een invloed uitoefenen op de waterloop en zijn fauna. Bij het analyseren van de stalen kunnen ze een mogelijke verklaring geven voor afwijkende resultaten (Goemans *et al*., 2003).

Tabel 3.1: Geanalyseerde stoffen en analyselaboratoria. Voor de gebromeerde vlamvertragers en voor de VOS werden de analyses slechts op een beperkte selectie van meetplaatsen uitgevoerd.

Stofgroep	Stoffen	Analyselabo
Zware metalen:	cadmium, kwik, lood, chroom, nikkel, koper, zink, arseen en selenium	Centrum voor Onderzoek in Diergeneeskunde en Agrochemie (CODA)
Polychloorbifenylen:	PCB 28/PCB 31, PCB 52, PCB 101, PCB 105, PCB 118, PCB138, PCB153, PCB 156, PCB 180	Departement voor Zeevisserij (DVZ) van het Centrum voor Landbouwkundig Onderzoek (CLO)*
Hexachloor-cyclohexanen:	α-HCH, γ-HCH (Lindaan)	DVZ/CLO
Cyclodienen (drins):	Dieldrin, Aldrin, Endrin	DVZ/CLO
Polychloorbenzeen:	Hexachloorbenzeen (HCB)	DVZ/CLO
Chloorethanen:	p,p'-DDD (TDE), p,p'-DDT, p,p'-DDE, trans-nonachloor	DVZ/CLO
Gebromeerde vlamvertragers:	HBCD, TBBP-A, PBDE's	Instituut voor Binnenvisserijonderzoek, Ijmuiden (RIVO)
Vluchtige organische solventen:	50 verschillende stoffen	DVZ/Beheerseenheid Mathematisch Model

* vanaf 1 april 2006 is het Centrum voor Landbouwkundig Onderzoek (CLO) samen met het wetenschappelijk deel van het Centrum voor Landbouweconomie (CLE) ondergebracht in een Intern Verzelfstandigd Agentschap (IVA) zonder rechtspersoonlijkheid onder de benaming 'Instituut voor Landbouw- en Visserijonderzoek (ILVO)'.



Figuur 3.1: Overzicht van de staalnamepunten van het palingpolluentenmeetnet (Y. Maes).

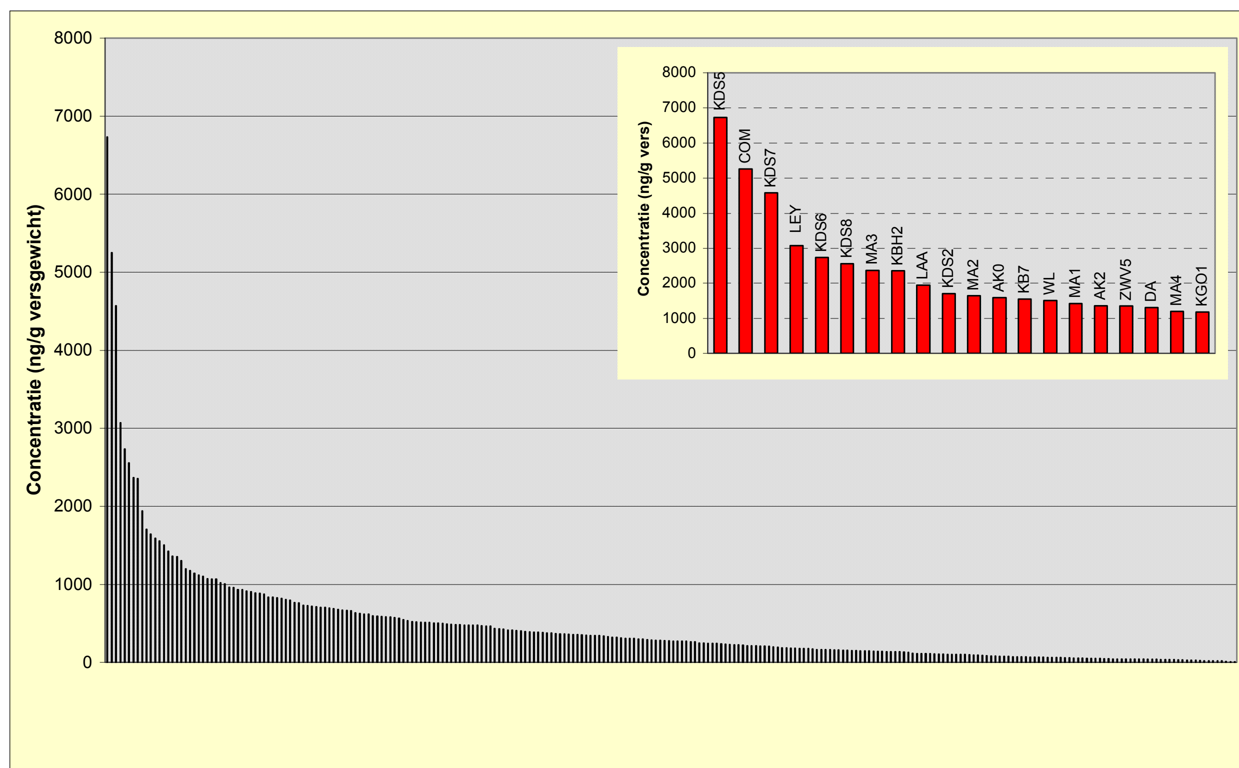
III.1. Polychloorbifenylen (PCB's)

PCB's zijn alomtegenwoordig in Vlaamse paling. Uit de resultaten van het palingpolluentenmeetnet blijkt dat de gemiddelde concentratie van de ΣPCB's voor Vlaamse paling 605 $ng.g^{-1}$ versgewicht bedraagt en dus de Belgische maximumnorm voor consumptie (75 ng g^{-1}) sterk overschrijdt (Tabel 3.2; gegevens van 1994-2005) en dit op 80% van de onderzochte locaties in Vlaanderen. Let op de grote standaarddeviatie. De verdeling van de totale PCB-concentratie in paling is scheef getrokken: 14% van de individuen vertoont een totale PCB-concentratie die hoger is dan 1000 $ng.g^{-1}$ versgewicht en 1,4% vertoont een concentratie die hoger is dan 5000 $ng.g^{-1}$ versgewicht (Maes *et al*., in press). Op 89 van de 260 locaties (34%) werd er een gemiddelde concentratie aan ΣPCB's aangetroffen die sterk afwijkt van de referentiewaarde. In vijf waters (9 locaties) werd een concentratie aangetroffen van boven de 2000 $ng.g^{-1}$ versgewicht, nl.: de Maas, het kanaal van Dessel naar Schoten, het kanaal van Bocholt naar Herentals, de Laan en de Leyloop. Een concentratie van 2000 $ng.g^{-1}$ versgewicht wordt internationaal erkend als zijnde totaal onverantwoord om nog te consumeren. PCB-waarden in paling uit de Rijn en de Maas behoorden de voorgaande jaren tot de hoogste waarden in zoetwatervissen in Europa gemeten. Alleen buiten Europa zijn hogere PCB-waarden voor diverse vissoorten gemeten, in 1977 in de Hudson rivier (New York, Verenigde Staten) welke de extreme waarden bedroegen van 1500-4000 mg kg^{-1}. In de beginperiode van de jaren 1980 daalde de PCB-concentratie in sterke mate in de Rijn en is daarna op een relatief constant niveau gebleven. Figuur 3.2 geeft een overzicht van de

PCB-concentraties (versgewichtsbasis) in paling uit Vlaamse oppervlaktewaters (Vlaanderen, 1995-2002) en Figuur 3.4 geeft een overzicht van de trend van lichaamslasten van paling van PCB's in de verschillende rivierbekkens in Vlaanderen.

Tabel 3.2: De lichaamslast (ng.g^{-1} versgewicht) van de verschillende PCB's die in spierweefsel van paling uit Vlaamse oppervlaktewateren aangetroffen werd. Aantal palingen (N), gemiddelden, minimum- en maximumwaarden en standaarddeviatie (St. Dev.) zijn berekend voor de periode 1994-2005 (Maes *et al.*, in press).

	N	gemiddelde	minimum	maximum	Std. Dev.
L (cm)	2839	41,79	19,20	102,30	9,28
G (g)	2838	153,46	11,70	2284,00	152,69
% vet	2528	14,92	0,5200	57,59	10,18
PCB28	2525	6,44	0,0035	292,65	15,11
PCB31	2525	3,04	0,0037	211,84	7,97
PCB52	2526	30,61	0,0087	624,36	53,82
PCB101	2526	55,55	0,0272	1505,79	104,77
PCB105	2526	18,12	0,0104	478,12	34,81
PCB118	2526	57,13	0,2904	2076,45	112,23
PCB138	2526	149,69	0,5805	2924,25	295,65
PCB153	2526	211,89	1,0423	5098,68	430,33
PCB156	2525	13,98	0,0263	352,71	25,17
PCB180	2525	93,48	0,1250	2131,50	180,93
ΣPCB's	2524	604,99	3,5213	12455,38	1118,56



Figuur 3.2: PCB-concentraties (versgewichtsbasis) in paling uit Vlaamse oppervlaktewaters (Vlaanderen, 1995-2002).

III.2. Pesticiden

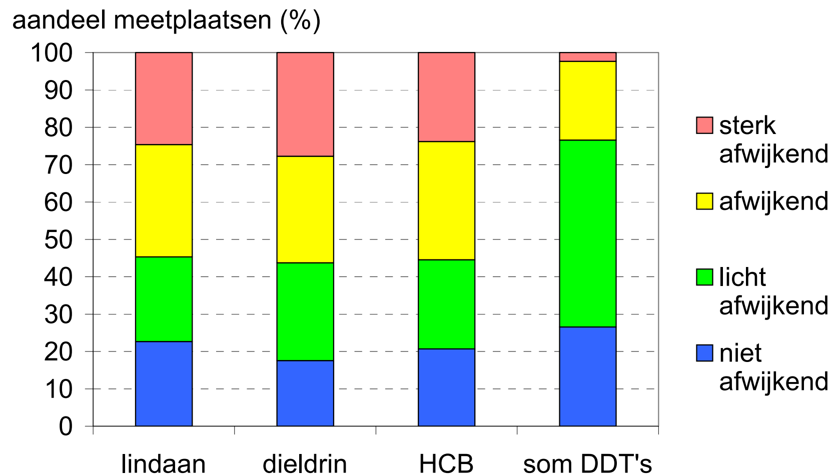
In Vlaanderen varieert de gemiddelde concentratie van de biocide lindaan tussen 0,01 en 2225 $ng.g^{-1}$ versgewicht met een gemiddelde lichaamslast van 31,4 $ng.g^{-1}$ versgewicht. Concentraties van α-HCH zijn gemiddeld 0,64 $ng.g^{-1}$ versgewicht (max. 16,9 $ng.g^{-1}$ versgewicht). Dieldrin en endrin die ooit als pesticiden gebruikt werden maar verboden zijn sinds 1974 en 1976 respectievelijk, werden in meer dan 90% van de geanalyseerde palingen aangetroffen. Dieldrinconcentraties hadden een gemiddelde van 15,6 $ng.g^{-1}$ versgewicht en een maximumwaarde van 389 $ng.g^{-1}$ versgewicht; de gemiddelde concentratie aan endrin was 1,4 $ng.g^{-1}$ versgewicht (max. 496 $ng.g^{-1}$ versgewicht). De fungicide hexachloorbenzeen werd aangetroffen in paling in een gemiddelde concentratie van 5,89 $ng.g^{-1}$ versgewicht (max. 192 $ng.g^{-1}$ versgewicht). DDT's zijn in alle vissen aanwezig in gesommeerde concentraties die variëren tussen 1,5 en 4000 $ng.g^{-1}$ versgewicht (Maes *et al*., in press). Tabel 3.3 geeft een overzicht van de lichaamslast ($ng.g^{-1}$ versgewicht) van de verschillende pesticiden die in spierweefsel van paling uit Vlaamse oppervlaktewateren aangetroffen werden. De internationaal gerapporteerde contaminantconcentraties in Europese paling voor verschillende pesticiden variëren (Robinet & Feunteun, 2002). Figuur 3.4 geeft de ruimtelijke verdeling van de gemiddelde lichaamslasten van paling voor lindaan, HCH, dieldrin, ∑DDT's, HCB en transnonachloor (Tnona) in de verschillende rivierbekken in Vlaanderen weer (Maes *et al*., in press).

Tabel 3.3: De lichaamslast ($ng.g^{-1}$ versgewicht) van de verschillende pesticiden die in spierweefsel van paling uit Vlaamse oppervlaktewateren aangetroffen werd. Aantal palingen (N), gemiddelden, minimum- en maximumwaarden en standaarddeviatie (St. Dev.) zijn berekend voor de periode 1994-2005 (Maes *et al*., in press).

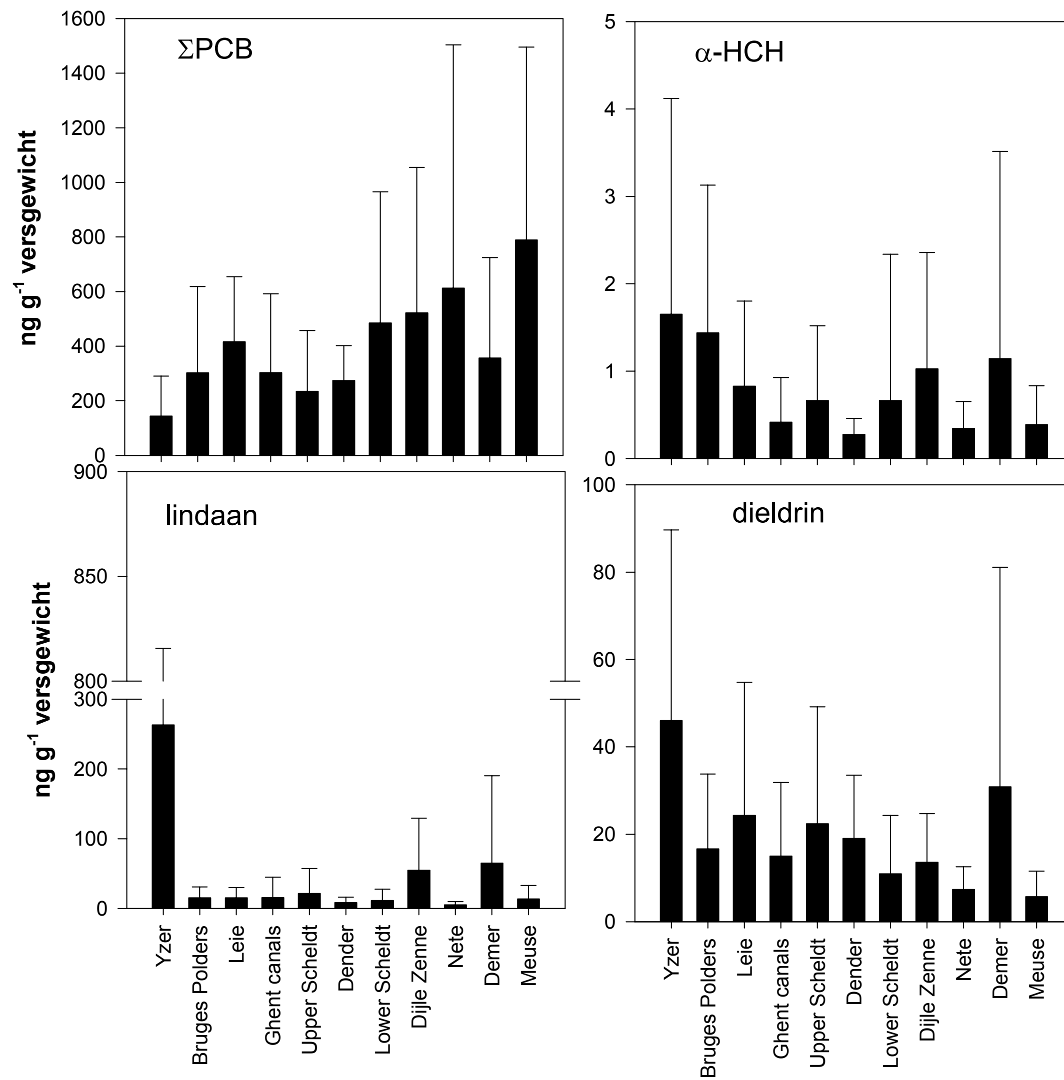
	N	gemiddelde	minimum	maximum	Std. Dev.
L (cm)	2839	41,79	19,20	102,30	9,28
G (g)	2838	153,46	11,70	2284,00	152,69
% vet	2528	14,92	0,5200	57,59	10,18
α-HCH	2528	0,64	0, 1	16,94	1,32
γ-HCH	2527	27,89	0,0109	2225,46	131,68
DIELDR	2528	15,63	0,0046	388,78	30,21
ENDRIN	2446	1,39	0,0026	495,83	11,59
HCB	2526	5,89	0,0026	191,95	8,91
TDE	2528	26,26	0,0108	568,46	41,36
pp'-DDT	2528	3,19	0,0037	187,81	9,58
pp'-DDE	2526	61,77	0,1007	3422,63	112,73
somDDT	2528	90,77	1,5149	3995,42	148,27
TNONA	2528	1,43	0,0026	52,03	2,73
aldrin	548	1,11	0,0056	14,11	2,21

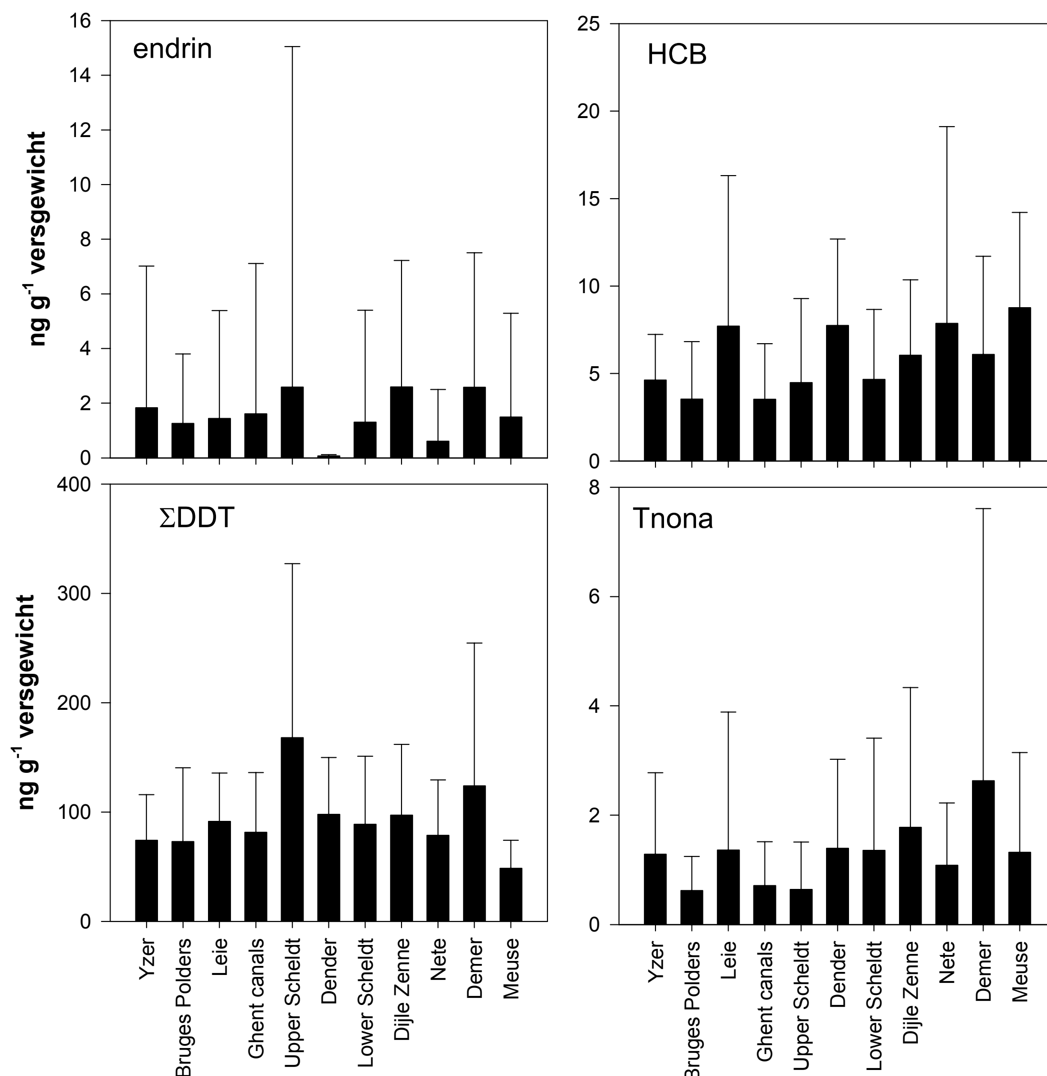
Figuur 3.3 geeft een overzicht van concentraties van een aantal organochloorinsecticiden in het spierweefsel van paling, uitgedrukt in afwijkingsklassen t.o.v. de referentiewaarde. Voor drie van de vier voorgestelde bestrijdingsmiddelen blijkt een niet te verwaarlozen aantal meetplaatsen sterk af te wijken van de referentietoestand. Voor lindaan, dieldrin en HCB is dit respectievelijk 25 %, 28 % en 24 %. Voor som DDT's werd slechts op 2 % van de meetplaatsen een sterk afwijkende concentratie teruggevonden. De hoogste gemiddelde som DDT-concentratie in Vlaanderen (680 $ng.g^{-1}$ versgewicht) is echter van dezelfde grootteorde als de hoogste concentratie teruggevonden in de internationale literatuur (720 $ng.g^{-1}$ versgewicht). Vooral de concentraties van lindaan zijn zeer hoog in vergelij-

king met waarden aangetroffen in paling uit onze buurlanden: maximum 171 $ng.g^{-1}$ versgewicht in de internationale literatuur versus 2000 $ng.g^{-1}$ versgewicht in Vlaanderen. Voor lindaan worden de hoogste concentraties gemeten in paling van het IJzerbekken. Deze vervuiling in paling kan in verband gebracht worden met het gebruik van deze stof (bietenteelt). Gezien het recente gebruiksverbod op lindaan (vanaf juni 2002), zal verdere monitoring moeten uitwijzen of dit ook een effect heeft op de concentraties in paling.



Figuur 3.3: Concentratie van 4 bestrijdingsmiddelen in het spierweefsel van paling: meetplaatsen ingedeeld in afwijkingsklassen t.o.v. de referentiewaarde (Vlaanderen, 1994-2002; Goemans *et al*., 2003).


ΣPCB
α-HCH
lindaan
dieldrin
ng g-1 versgewicht
ng g-1 versgewicht
Yzer
Bruges Polders
Leie
Ghent canals
Upper Scheldt
Dender
Lower Scheldt
Dijle Zenne
Nete
Demer
Meuse



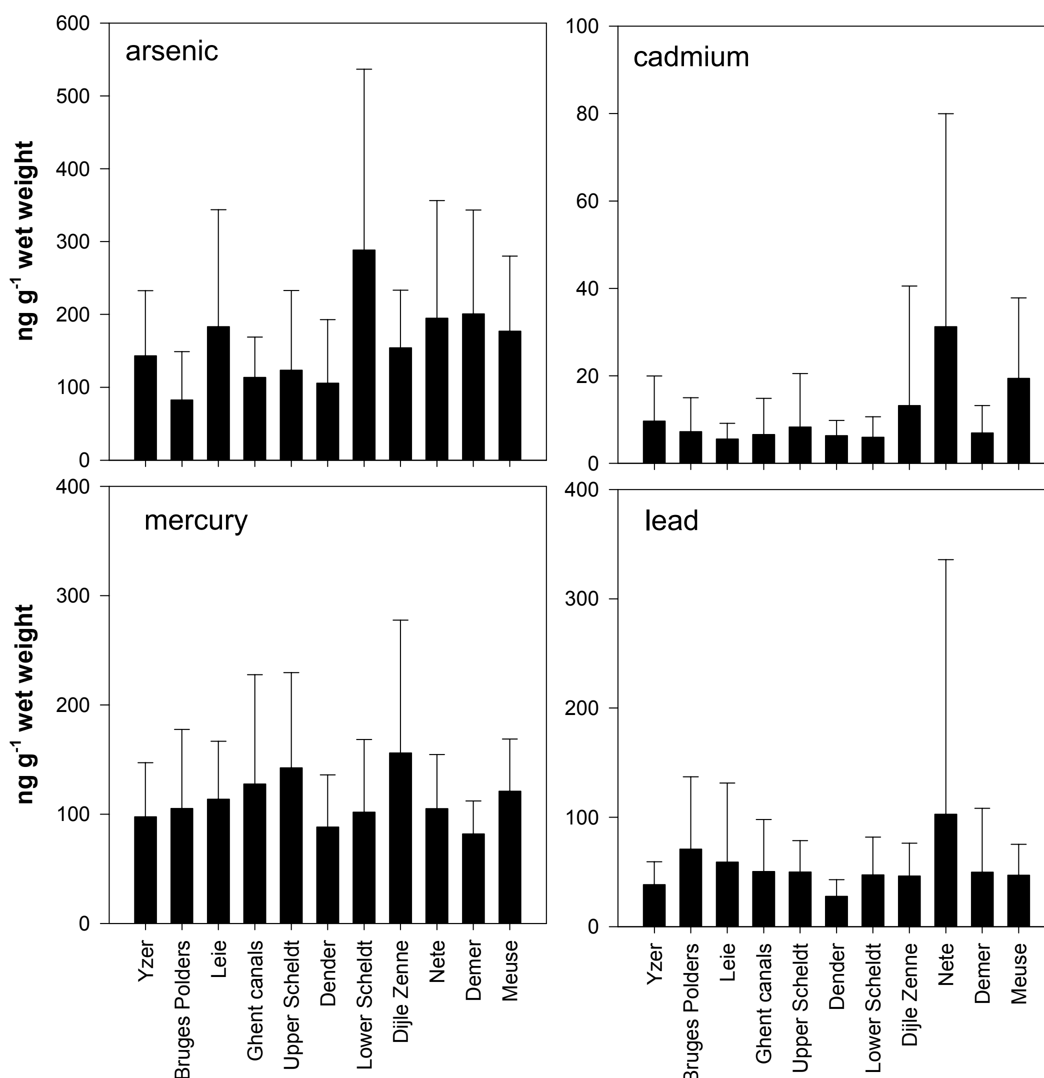
Figuur 3.4: Ruimtelijke verdeling van de gemiddelde lichaamslasten van paling van PCB's, lindaan, HCH, dieldrin, ∑DDT's, HCB en transnonachloor (Tnona) in de verschillende rivierbekken in Vlaanderen (Maes *et al*., in press).

III.3. Zware metalen

In Vlaanderen variëren de gemiddelde concentraties aan zware metalen tussen 15,75 $ng.g^{-1}$ versgewicht voor cadmium en 25865 $ng.g^{-1}$ versgewicht voor zink (Tabel 3.4; Figuur 3.5). Een vergelijking van deze waarden met de geldende normen in België en deze die door de EG (2001) (Tabel 1.3) werden voorgesteld laat zien dat de norm voor cadmium (100 $ng.g^{-1}$ versgewicht) en voor lood (400 $ng.g^{-1}$ versgewicht) gemiddeld niet overschreden worden maar die voor zink (1000 $ng.g^{-1}$ versgewicht) wel. Gemiddelde concentraties aan PCB's, HCB, pp'-DDD, pp'-DDE en kwik nemen significant toe met een toenemende lichaamslengte wat wijst op bioaccumulatie in paling. Concentraties aan lood zijn negatief gecorreleerd met de vislengte.

Tabel 3.4: De lichaamslast (ng.g^{-1} versgewicht) van de verschillende zware metalen die in spierweefsel van paling uit Vlaamse oppervlaktewateren aangetroffen werd. Aantal palingen (N), gemiddelden, minimum- en maximumwaarden en standaarddeviatie (St. Dev.) zijn berekend voor de periode 1994-2005 (Maes *et al.*, in press).

	N	gemiddelde	minimum	maximum	Std. Dev.
L (cm)	2839	41,79	19,20	102,30	9,28
G (g)	2838	153,46	11,70	2284,00	152,69
% vet	2528	14,92	0,5200	57,59	10,18
Hg	2769	116,62	5,0	1185	98,89
Cd	2809	15,75	1,0	2474	62,21
Pb	2802	81,17	1,0	3453	172,17
Cu	2117	909,73	40,0	436000	10006,90
Zn	2117	25864,79	1200,0	243100	15919,30
Ni	2117	207,83	5,0	16300	692,00
Cr	2117	254,51	17,2	13690	455,97
As	1410	168,13	14,0	1805	176,72
Se	1410	753,93	24,0	5098	499,75



Figuur 3.5: Ruimtelijke verdeling van de gemiddelde lichaamslasten van paling voor vier zware metalen: arseen, cadmium, kwik en lood voor de verschillende rivierbekkens in Vlaanderen (Maes *et al*., in press).

III.4. Gebromeerde vlamvertragers

Bepaalde gebromeerde vlamvertragers met name HBCD (hexabroomcyclododecaan), TBBP-A (tetra-bromobisfenol-A) en PBDE's (polygebromeerde difenylethers) worden in zeer hoge concentraties in Vlaanderen gemeten, althans in het aquatisch milieu. Ze zijn aanwezig in het sediment en sommige stapelen zich in zeer hoge mate op in biota. Zo werden in 2001 indicaties van hoge HBCD-concentraties aangetroffen in biota en sediment van de Westerschelde (de Boer *et al*., 2001) en de aanwezigheid van HBCD in eieren van de visdief (*Sterna hirundo*) nabij Terneuzen. Bovendien is het bekend dat er zich stroomop- en –afwaarts Antwerpen een intensieve textielindustrie bevindt. Mogelijk gebruiken een aanzienlijk deel van deze bedrijven gebromeerde vlamvertragers in hun producten. Er werd een onderzoek opgestart met de bedoeling om de mogelijke herkomst van deze stoffen op te sporen. Hierbij is het niet onbelangrijk te vermelden dat de textielnijverheid in Vlaanderen zeer sterk ontwikkeld is. In België is de textielproductie een Vlaamse specialiteit: Vlaanderen vertegenwoordigt

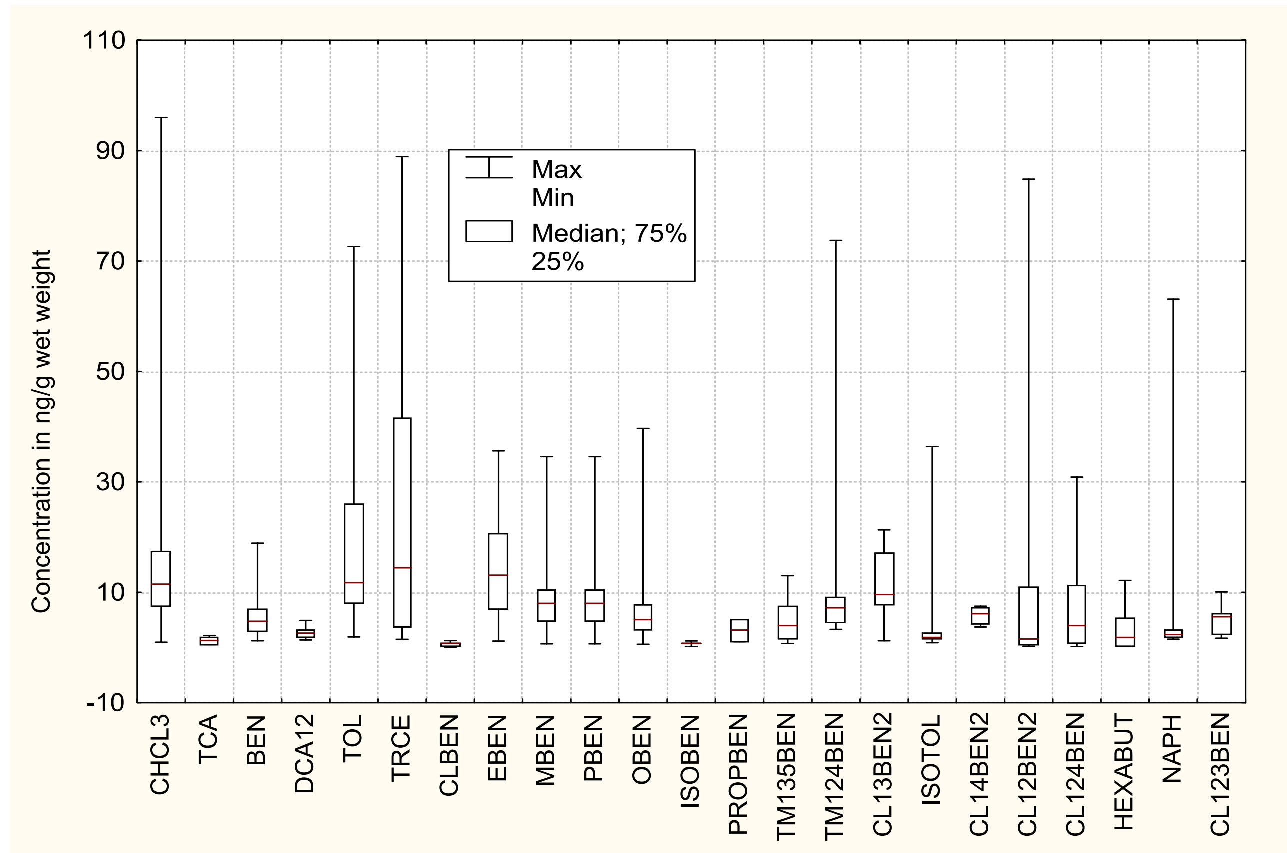
ongeveer 85% van de productiewaarde en de tewerkstelling van de Belgische textielnijverheid. De Vlaamse textielnijverheid voert ongeveer 80% van haar productie uit. De belangrijkste bedrijfstakken zijn de tapijt- en katoenindustrie. De textielnijverheid is aardrijkskundig zeer geconcentreerd: 95% van de activiteiten is gevestigd in West- of Oost-Vlaanderen, nl. in de regio's rond Kortrijk en Gent (Steyaert & Gauderis, 1994). Ook stroomopwaarts en –afwaarts van Antwerpen bevindt zich een intensieve textielindustrie die mogelijk gebromeerde vlamvertragers in hun producten verwerken. Hoge concentraties van deze stoffen in biota en sediment van de Westerschelde en de Antwerpse haven waren aanleiding voor het nemen van monsters in het Scheldebekken (de Boer *et al*., 2001).

Onderzoek toont aan dat gebromeerde vlamvertragers in toenemende mate aangetroffen worden in ons milieu, vooral in het aquatisch milieu waar ze aanwezig zijn in het sediment en zich soms in hoge mate opstapelen in biota (Belpaire & Goemans, 2002). Paling afkomstig uit de Schelde in Oudenaarde bijvoorbeeld heeft een maximumwaarde voor HBCD (hexabromocyclododecaan), een soort vlamvertrager, van 33 mg kg^{-1} (vetgewicht). Zulke concentratie wijst op ophoping van deze stoffen in zoetwater omgevingen en op de invloed van de productie en het gebruik van deze stoffen op deze plaatsen. De gehalten aan gebromeerde vlamvertragers in paling zijn op sommige plaatsen in Vlaanderen zeer hoog: de maximale waarde voor HBCD is 33 000 µg kg^{-1} vetgewicht, terwijl de maximale waarde voor deze stof in Nederland 850 µg kg^{-1} vetgewicht is. Concentraties hoger dan 30 000 µg kg^{-1} vetgewicht werden nog maar uitzonderlijk in vis vastgesteld. Vermoedelijk wijzen de hoge waarden op sommige meetplaatsen op de productie of het gebruik van deze stoffen. Bovendien kunnen analyses van het congenerenprofiel in sommige gevallen indicaties geven betreffende hun oorsprong.
Omdat de onderzochte rivieren in de Noordzee uitmonden, werden ook restanten van deze gebromeerde vlamvertragers in dieren uit verschillende trofische niveaus van de Noordzee onderzocht. Uit de toenemende concentraties aan verontreinigende stoffen in organismen aan de top van de voedselketen blijkt dat deze stoffen in staat zijn zich op te stapelen in het milieu en ook in de voedselketen. Zo vertonen de visdiefjes in het Westerschelde estuarium concentraties van 0,3 – 0,7 mg kg^{-1} terwijl dit voor grondel (*Gobio gobio* ;zijn prooi) veel lager is. Deze resultaten tonen aan dat gebromeerde vlamvertragers een nieuw probleem kunnen vormen. Deze stoffen zijn dus in staat om te accumuleren in organismen en daar schadelijke ef-fecten te veroorzaken. Bovendien breken ze niet gemakkelijk af en blijven dus lang in het milieu aanwezig. Daarom is het belangrijk dat het Vlaams milieubeleid aandacht geeft aan de monitoring van deze stoffen in ons milieu en specifiek in aquatische biota. Het is eveneens belangrijk dat de gegevens omtrent het voorkomen en de evoluties van deze stoffen in ons milieu goed gedocumenteerd worden (De Wit, 2001 in '3rd Annual Workshop on Brominated Flame Retardants in the Environment"). Een inventarisatie van het gebruik en de emissie van deze stoffen in Vlaanderen is daarom noodzakelijk. Sommige stoffen zouden omwille van hun voorkomen en effecten verboden moeten worden.

III.5. Vluchtige organische componenten

Het belang van VOC's is niet te onderschatten, daarom zijn sommige van hen opgenomen in de prioriteitenlijst van de Kaderrichtlijn Water (CEC, 2006b). Onderzoek naar 52 vluchtige organische stoffen in paling van 20 meetplaatsen in Vlaanderen toonde aan dat bijna de helft van de onderzochte stoffen - d.i. 25 van 52 - aangetroffen werden in één of meerdere palingen (Roose *et al*., 2003).
De concentraties VOC's die in Vlaanderen gedetecteerd werden, variëren aanzienlijk van stof tot stof. Zoals te zien is in Figuur 3.6, liggen de gemiddelde concentraties tussen 1-14 ng g^{-1}, variërende van 0,5 ng.g^{-1} voor isopropylbenzeen tot 14 ng.g^{-1} versgewicht voor tetrachlooretheen. Hoge concentraties,

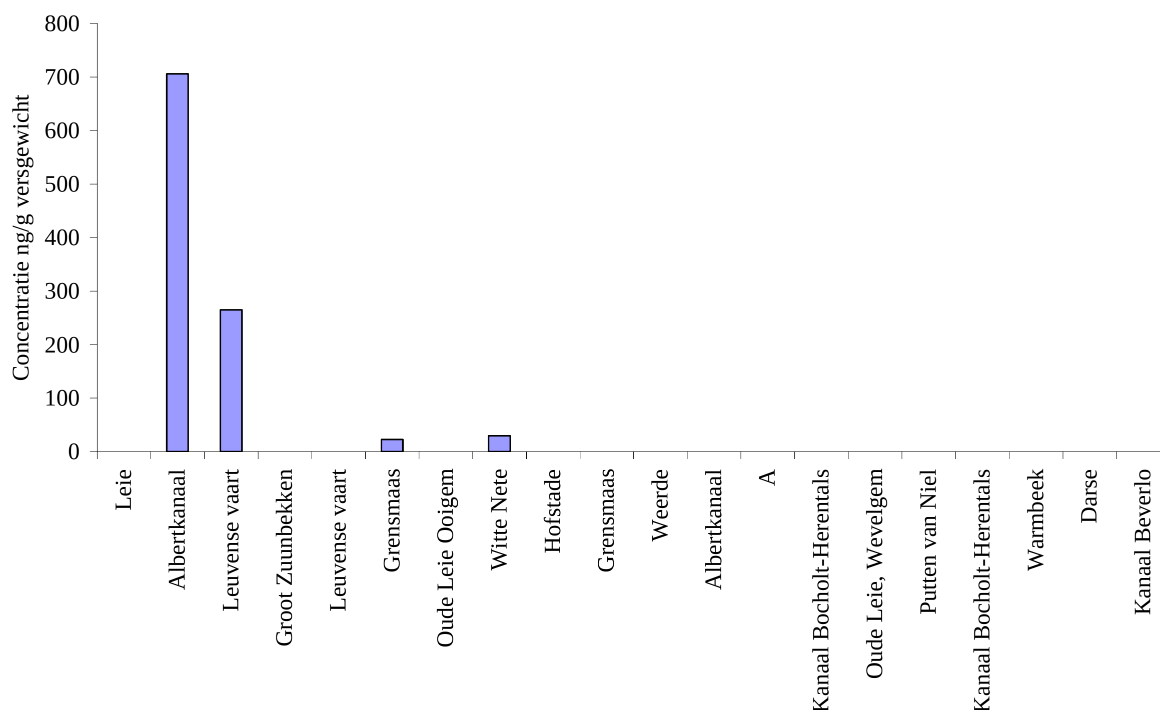
d.w.z. hoger dan 30 ng.g^{-1} werden voor 12 VOC's gevonden met een maximum van 700 ng.g^{-1} versgewicht voor 1,2-dibroom-3-chloorpropaan. De resultaten zijn geen grote verrassing omdat eerder onderzoek al de aanwezigheid van VOC's aantoonde in mariene organismen en palingen uit het Schelde estuarium (Roose & Brinkman 1998; Roose *et al*., 2001). De gemiddelde concentraties in mariene vissen ligt echter een stuk lager dan in paling.



Figuur 3.6: Box en whisker plot van de aangetroffen VOC's voor alle palingstalen met van links naar rechts: (6) chloroform; (7) 1,1,1-trichloorethaan; (10) benzeen; (11) 1,2-dichloorethaan; (17) tolueen; (20) tetrachlooretheen; (24) chloorbenzeen; (26) ethylbenzeen; (27) *m*-xyleen; (28) *p*-xyleen; (29) *o*-xyleen; (32) isopropylbenzeen; (36) *n*-propylbenzeen; (38) 1,3,5-trimethylbenzeen; (41) 1,2,4-trimethylbenzeen; (43) 1,3-dichloorbenzeen; (44) *p*-isopropyltolueen; (45) 1,4-dichloorbenzeen; (47) 1,2-dichloorbenzeen; (48) 1,2-dibroom-3-chloorpropaan; (49) 1,2,4-trichloorbenzeen; (50) hexachloorbutadiern; (51) naphthaleen; (52) 1,2,3-trichloorbenzeen (Roose *et al*., 2003).

De hoge concentratie van 1,2-dibroom-3-chloorpropaan (700 ng.g^{-1} versgewicht) werd gemeten in paling afkomstig van het Albertkanaal in Langerlo. 1,2-dibroom-3-chloorpropaan is een pesticide die gebruikt wordt in het kader van onderzoeksdoeleinden en in toepassingen van organische synthese (ATSDR, 1992). Het breekt traag af in de lucht en verdwijnt na verschillende maanden, in het oppervlaktewater daarentegen verdampt de stof in enkele dagen tot een week. De richtwaarde in het drinkwater voor een bijkomende risico op kanker van 1 op 100 000 personen voor deze kankerverwekkende stof is 1 µg g^{-1} (Belgische Senaat, 2003). Volgens ATSDR (1992) zet 1,2-dibroom-3-chloropropaan zich niet vast aan het sediment en wordt er niet verwacht dat vis grote hoeveelheden opstapelt. Toch wijzen onze resultaten op bioaccumulatie onder bepaalde omstandigheden. Tachtig percent van de geanalyseerde paling bevindt zich onder de detectiegrens (0,05 ng.g^{-1} vergewicht; Figuur 3.7). Hoge concentraties werden aangetroffen in paling afkomstig van twee kanalen namelijk de Leuvense vaart

265 ng.g^{-1} en het Albertkanaal 706 ng g^{-1}, beide belangrijke kanalen in het midden van België. Dit wijst op lokale vervuilinghaarden op deze meetplaatsen waarvan de oorsprong hiervan ons echter onbekend is.



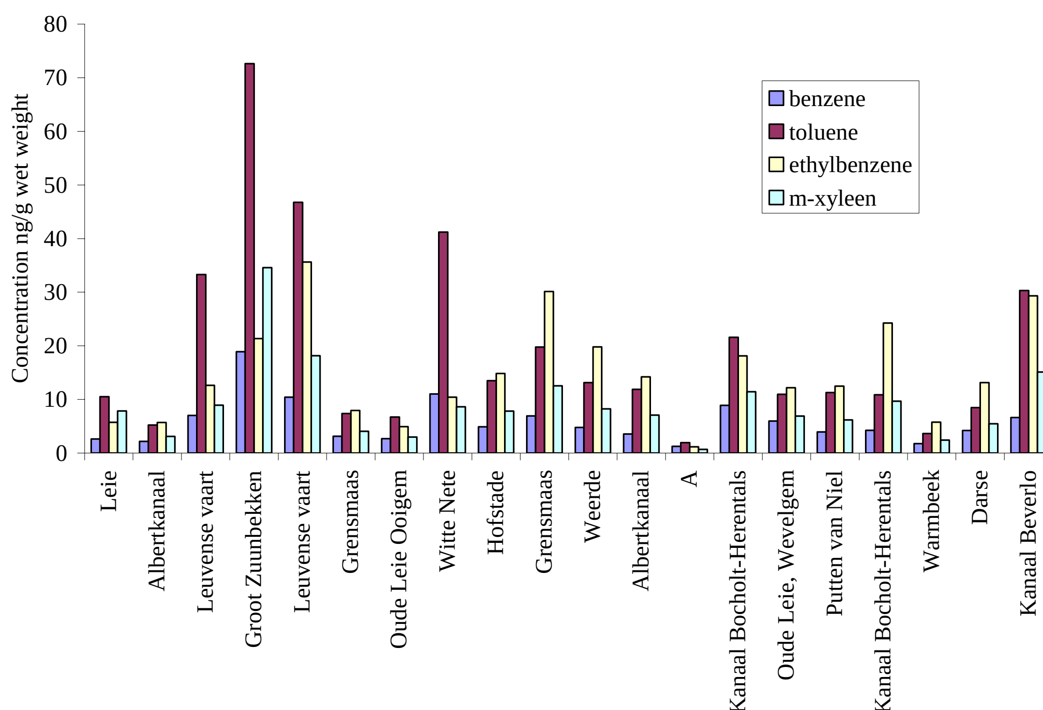
Figuur 3.7: Concentraties 1,2-dibroom-3-chloorpropaan in palingen op 20 plaatsen in Vlaanderen (1996-1998). Gegevens van Roose *et al.* (2003).

1,2-dichloorbenzeen (of *o*-dichloorbenzeen) wordt gebruikt in landbouwchemicaliën en als solvent voor beschermingsmiddelen, pigmenten, verven, ontvetters, … Tien Vlaamse meetplaatsen liggen onder de detectielimiet (50%), terwijl op twee meetplaatsen de aangetroffen concentraties hoog zijn (Oude Leie in Wevelgem: 85 ng.g^{-1} BW en Leie in Menen: 49 ng.g^{-1} BW). Er zijn weinig studies bekend over het voorkomen van 1,2-dichloorbenzeen in vis. Begin jaren 1980 werden in de Great Lakes (VS) concentraties gemeten van 0,3 ng.g^{-1} BW in forel *Salvelinus namaycush* en van 1,0 ng.g^{-1} in regenboogforel *Oncorhynchus mykiss* (Oliver & Nicol, 1982; Oliver & Niimi, 1983; Fox *et al*., 1983). Beide voornoemde Vlaamse meetplaatsen liggen in de buurt van de Leie in de nabijheid van belangrijke industrieën voor textielafwerking en de afwerking van pigmenten (Anonymous, 2003b; Belpaire & Goemans, 2007).

Benzeen, tolueen, ethylbenzeen en xyleen (BTEX) zijn belangrijke industriële componenten onder de VOC's. BTEX wordt bovendien niet alleen bij industriële processen d.i. locale bronnen aangetroffen, het komt op alle staalnameplaatsen voor en de variabiliteit in waarden is kleiner dan voor de andere VOC's (Figuur 3.8). Bovendien zijn de verschillende BTEX-componenten extreem sterk met elkaar gecorreleerd (0,77 - 0,98; Roose *et al*. 2003) wat erop wijst dat BTEX een diffuse natuur heeft en dat onderbouwt het besluit dat het gebruik van fossiele brandstoffen in vb. het verkeer de voornaamste bron van BTEX is. BTEX zitten immers in diesel en veel petrochemische producten en worden uitgestoten door verbrandingsmotoren (Howard 1989, 1990; Crookes *et al*., 1993).

Globaal gezien zijn de vervuilinggraden voor palingen die op eenzelfde locatie gevangen werden gelijkaardig (Albertkanaal, Grensmaas, Kanaal Leuven-Dijle). Wanneer echter de rivierbekkens vergele-

ken worden, ziet men duidelijk dat de BTEX-concentraties in palingen van sterk geïndustrialiseerde gebieden en dichtbevolkte regio's (Dender, Dijle-Zenne en Netebekken) hoger zijn. Zo kunnen bijvoorbeeld de hoge concentraties die op de staalnameplaats van het Groot-Zuunbekken aangetroffen zijn, verklaard worden door zijn ligging in een dichtbevolkt en geïndustrialiseerd gebied in de nabijheid van een groot chemisch bedrijf in Drogenbos (op 9 km van de meetplaats), dat plastics in primaire vorm produceert en directe emissies doet van 0,46 ton BTEX/jaar (EPER, European Pollutant Emission Register) (Belpaire & Goemans, 2007).



Figuur 3.8: Concentraties BTEX-componenten in palingen op 20 plaatsen in Vlaanderen (1996-1998). Gegevens van Roose *et al*. (2003).

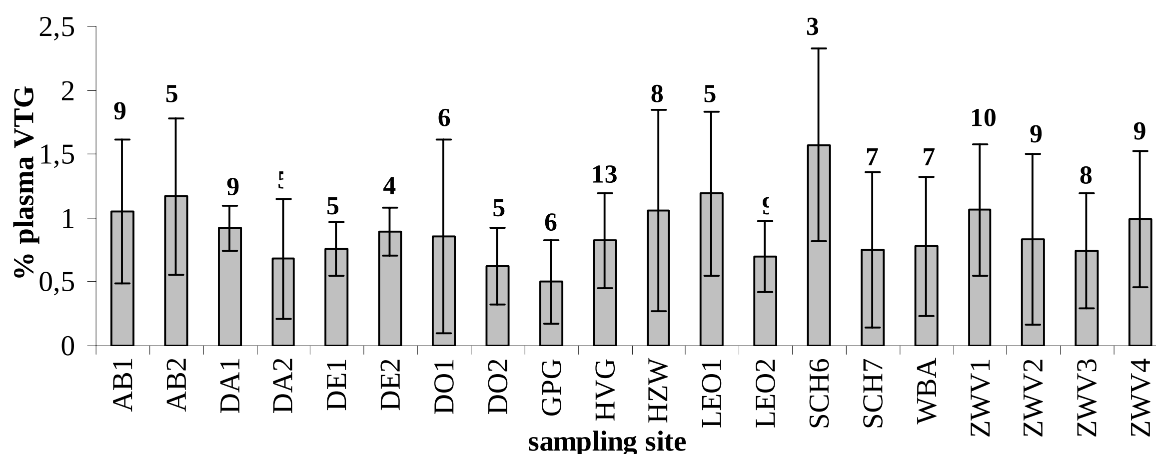
III.6. Endocriene verstoorders in paling

Endocriene verstoorders. Xeno-oestrogenen. Het zijn allemaal termen die duiden op scheikundige stoffen, zowel synthetische als natuurlijke, die in staat zijn het delicate evenwicht van het hormoonsysteem te ontregelen. Het zijn stoffen die o.a. de werking van het vrouwelijk geslachtshormoon 17β-oestradiol kunnen nabootsen of de werking ervan blokkeren. Er is een toenemende aanwijzing dat door de mens geproduceerde xeno-oestrogenen de endocriene status van in het wild levende dieren kan beïnvloeden (Damstra *et al.,* 2002). Hoewel de precieze actiemechanismen nog maar weinig begrepen worden en de oorzaken nog niet altijd bekend zijn, is er een grote evidentie dat afvalwatereffluenten de endocriene functies bij vissen kunnen verstoren (Harries *et al*., 1999; McArdle *et al.,* 2000; Damstra *et al*., 2002).

Slechts 64,4% van het huishoudelijke afvalwater wordt gezuiverd dus de componenten die een oestrogene activiteit bezitten komen in relatief hoge concentraties in het oppervlaktewater voor (MIRA, 2006). Natuurlijke of synthetische bereidingen van hormonen en xeno-oestrogenen kunnen zich immers door agrarische activiteiten, via afvalstromen van diverse industriële sectoren en rioolwaterzuive-

ringsinstallaties verspreiden in het milieu. Organochloorpesticiden bijvoorbeeld worden in meer dan 42% van de herhaaldelijk onderzochte staalnameplaatsen in hogere concentraties dan de standaard-milieunormen aangetroffen (De Cooman *et al*., 2002). Er zijn meerdere inventarisatiestudies die het belang van de verspreiding van chemische stoffen met hormoonverstorende potentie aantonen voor Vlaanderen (Bayens & Goeyens, 1998; Witters *et al*., 2000, 2003). In 2003 werd door Witters *et al*. een monitoringstudie uitgevoerd met behulp van biologische testen, waarbij voor het bekken van de Boven-Schelde aangetoond werd dat er vooral in oppervlaktewaters een hoge oestrogene potentie aanwezig is, die meestal beduidend hoger is dan in rivieren in de ons omringende landen.

Versonnen *et al*. (2004) onderzochten palingen in het gele aal stadium op verstoring door xeno-oestrogene stoffen. De plasma VTG-gehaltes werden gemeten in 142 palingen van 20 meetplaatsen in Vlaanderen. De resultaten worden in Figuur 3.9 voorgesteld. Hieruit blijkt dat de ruimtelijke variaties in de VTG-gehaltes van palingen in Vlaanderen beperkt zijn. Blijkbaar is paling, althans in zijn immature gele aal stadium, geen goeie indicator om endocriene verstoring via VTG-metingen op te sporen. Literatuurgegevens bevestigen dit. Er kan besloten worden dat het niet zinvol lijkt onvolwassen of niet-seksueel gedifferentieerde palingen systematisch te screenen op de aanwezigheid van vitellogenine in bloedplasma of lever (Versonnen *et al*., 2004). Dit betekent geenszins dat paling geen effecten van die chemische stoffen op de reproductiefysiologie zou ervaren. Recentelijk werd immers wetenschappelijk aangetoond dat dit wel degelijk het geval kan zijn (van den Thillart *et al.,* 2005; Palstra *et al,* 2006), waarbij reproductieverstoringen in verband gebracht werden met o.a. gehaltes aan PCB's in het vet van de vrouwelijke palingen. Wellicht zullen die effecten pas meetbaar zijn bij het op gang komen van het maturatieproces waarbij een hoeveelheid van de potentieel endocrien verstorende chemicaliën vanuit het vet gemetaboliseerd worden en aldus pas dan op de fysiologie van het reproductieproces hun impact zullen hebben. Het is dus aangewezen om in de toekomst de effecten van endocriene verstoorders op zilverpaling te bestuderen.



Figuur 3.9: Relatieve plasma vitellogenine (VTG) in paling van 20 Vlaamse locaties met standaardafwijking op het gemiddelde, ook het aantal vissen is weergegeven (Versonnen *et al*., 2004).

Code	Locatie	Code	Locatie
AB1	Abeek, Bocholt	HZW	Vijver te Hazewinkel, Willebroek
AB2	Abeek, Kinrooi	LEO1	Leopoldskanaal, Sint Laureins
DA1	Antwerpse dokken	LEO2	Leopoldskanaal, Damme
DA2	Antwerpse dokken	SCH6	Schelde, Hamme
DE1	Dender, Geraardsbergen	SCH7	Schelde, Antwerp

DE2	Dender, Ninove	WBA	Warmbeek, Hamont-Achel
DO1	Dommel, Overpelt	ZWV1	Zuid-Willemsvaart, Maasmechelen
DO2	Dommel, Neerpelt	ZWV2	Zuid-Willemsvaart, Dilsen-Stokkem
GPG	Vijver Ganzepoot, Hoeilaart	ZWV3	Zuid-Willemsvaart, Dilsen-Stokkem
HVG	Visvijver, Hoeilaart	ZWV4	Zuid-Willemsvaart, Bree

III.7. Perfluorverbindingen

PFOS-concentraties in visweefsel werden totnogtoe maar zelden onderzocht. Meestal werden de biochemische effecten van blootstelling aan PFOS hoofdzakelijk bestudeerd in zoogdiersoorten.
Onderzoek naar de PFOS-concentraties in leverweefsel van vis afkomstig uit een aantal zoetwater locaties in Vlaanderen leerde dat de concentraties in paling uit de Ieperleevaart en de Blokkersdijkvijver hoger zijn dan de hoogste waarden die in de Verenigde Staten aangetroffen werden (170 $ng.g^{-1}$ versgewicht in lever van de Chinook zalm uit de Great Lakes; Giesy & Kannan, 2001) en vergelijkbaar zijn met de hoogste waarden tot op heden (5140 $ng.g^{-1}$ versgewicht in otterlever, Kannan *et al.*, 2005). De verhoogde PFOS-concentraties in vis van de Ieperleevaart toont aan dat hoge concentraties niet alleen in de nabijheid van fluorochemische bedrijven voorkomen zoals dat het geval is voor de Blokkersdijk maar evengoed in geïndustrialiseerde gebieden zonder perfluorochemische activiteit optreden. Dit is zeker en vast het geval voor de Ieperleevaart in Boezinge omdat de staalnameplaats stroomafwaarts van de industriezone in Ieper gelegen is, wat erop wijst dat de PFOS (of zijn voorlopers) in de Ieperleevaart terechtkomen via industrieel of huishoudelijke afvalwater.

Uit de studie blijkt dat beide staalnameplaatsen: de Blokkersdijkvijver (Antwerpen) gelegen in een natuurreservaat naast een fluorochemische productie-eenheid en de Ieperleevaart in Boezinge (Ieper) stroomafwaarts van een industriegebied zonder perfluorochemische productieactiviteiten gelegen, hot spots zijn voor de PFOS-vervuiling in Vlaanderen. Op deze locaties behoren de concentraties die in de lever aangetroffen worden tot de hoogste die ooit bij dieren in het wild aangetroffen werden. Onderzoek leerde ook dat PFOS leverschade kan toebrengen bij zoetwatervissen evenals kieuwschade veroorzaken en een verzwakking van de membraanstructuur die uiteindelijk uiteen zal vallen (Hoff *et al.*, 2005).

III.8. Genetische variabiliteit

Het begrijpen van de effecten van polluenten op het genoom is van cruciaal belang om het evolutiepotentieel van bedreigde natuurlijke populaties te bewaren. Dit is zo omdat een sterke genetische verscheidenheid de populatie de kans geeft om zich aan te passen aan de selectiekrachten (Gillespie & Guttman, 1989). Onder normale omstandigheden (vb. afwezigheid van menselijke invloeden), fluctueren de allelfrequenties van een populatie met de tijd en zijn ze in overeenstemming met stochastische processen zoal drift, migratie en/of omgevings selectiedruk (klimaat- en habitatveranderingen), terwijl polymorfisme behouden blijft. Sterke verstoringen in een korte tijdspanne, bijvoorbeeld vervuiling door de mens en oogst, kunnen de condities en de genetische variabiliteit doen dalen en zo de levensvatbaarheid (fitness) van natuurlijke populaties reduceren. Daarom neemt de gevoeligheid voor additionele milieustress toe en verzwakt de overlevingskans van de soort (Thorpe *et al.*, 1981; Learly *et al.*, 1987; Stanton *et al.*, 2000).

III.9. Paling en volksgezondheid

De concentraties PCB's die in niet commerciële Europese paling in Vlaanderen aangetroffen worden, zijn hoog: in 81% van de onderzochte locaties wordt de Belgische PCB-standaard voor vis (75 ng g^{-1}) overschreden. M.a.w. ook de bevolking kan blootgesteld worden aan te hoge PCB-waarden door het consumeren van vervuilde paling. Bilau *et al*. (subm.) vergeleken de opname van PCB's via palingconsumptie bij recreatieve vissers met de opname bij de gemiddelde bevolking. De geschatte opname voor recreatieve vissers varieert tussen 18,4 en 237,6 ng ΣPCB's kg^{-1} lichaamsgewicht/dag afhankelijk van het consumptiepatroon terwijl de geschatte opname van de palingconsumerende bevolking 4,3 ng ΣPCB's kg^{-1} lichaamsgewicht/dag is. De opname van de PCB's door consumptie van zelfgevangen paling in Vlaanderen lijkt belangrijk te zijn. Het Vlaamse paling meeneemverbod dat sinds 2002 van banden is, zou dus behouden moeten blijven en goed opgevolgd (Bilau *et al*., subm.). Ook het sensibiliseren van de hengelaars is belangrijk. Daarom wordt er op de jaarlijkse visverloven volgende boodschap gedrukt: "*De Vlaamse Overheid ontraadt de consumptie van zelf gevangen paling en roofvis uit openbare wateren*." Bovendien is in 2006 aan elke visser bij aankoop van zijn visverlof een sensibiliserende folder bezorgd inzake de vervuiling in paling en de consumptierisico's.
De Hoge Gezondheidsraad en de Administratie Volksgezondheid brengen regelmatig advies uit. Hieronder een kort overzicht van enkele recente adviezen, nota's of standpunten

- De Hoge Gezondheidsraad bracht op 23 februari 2005 een advies uit over het gezondheidsrisico voor sportvissers door het eten van zelfgevangen vis. Dit advies werd uitgebracht op vraag van het Ministerie van de Vlaamse Gemeenschap. Er werd een schatting gemaakt van het gezondheidsrisico voor sportvissers door de inname van PCB's. Besluit: het gezondheidsrisico dat sportvissers lopen zal mogelijk stijgen indien men het meeneemverbod van paling zou opheffen, omdat dan meer vissers paling zouden meenemen.
- Actie van het FAVV (Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen): analyse van palingen op PCB's uit het commercieel circuit in België en uit oppervlaktewater van Wallonië van 2004. De bekomen resultaten waren dat palingen ingevoerd vanuit de VS de Belgische norm van 75 ng.g^{-1} lichaamsgewicht sterk overschreden, palingen uit de Maas in Lixhe overtroffen de norm in hoge mate (tot 1200 ng.g^{-1} versgewicht) en palingen uit de kleinhandel waren soms boven de norm. Conclusies voor wat het meeneemverbod betreft waren om na overleg met het Waals gewest en na meer uitvoerig onderzoek ook een meeneemverbod in te stellen voor Wallonië.
- Ook de eigen Vlaamse Gezondheidsadministratie bracht op 25 februari 2003 een advies uit en dit op vraag van het Visserijfonds. De vraagstelling was of het meeneemverbod al dan niet gehandhaafd zou moeten blijven. Het advies luidde: "De Administratie Gezondheidszorg pleit voor het behoud van het meeneemverbod en het consumptieverbod van paling uit de Vlaamse wateren. De palingen bevatten nog steeds te hoge concentraties van gezondheidsschadende stoffen. Dit omwille van de sterk afwijkende concentraties voor een aantal pesticiden, aangetroffen hoge concentraties voor cadmium en lood, de langzaam stagnerende maar nog steeds hoge tot zeer hoge concentraties aan PCB's en het steeds groter wordende aantal van gebromeerde vlamvertragers (gelijkaardige stoffen als PCB's) in ons milieu."
- Nota van het Instituut voor Bosbouw en Wildbeheer en het Departement Zeevisserij opgesteld op vraag van de Hoge Gezondheidsraad. Er werden PCB-metingen uitgevoerd in consumptiepaling uit de handel in Vlaanderen. Het advies werd uitgebracht op 22 november 2000. Ongeveer de helft van de consumptiepalingen uit de handel waren boven de norm.

III.10. Trends in palingcontaminatie

De data van het palingpolluentenmeetnet duiden op een dalende lichaamslast van sommmige persistente chemicaliën in de Europese paling. Tijdseries van weefselconcentraties van PCB's en pesticiden laten een negatieve trend zien. Deze daling stemt overeen met andere studies die rapporteren over tijdseries voor contaminanten in vis (Maes *et al*., in press). PCB's werden in 1985 verboden in de Europese Unie en sindsdien wijzen meerdere tijdseries op dalende concentraties. Een bekend voorbeeld is de dalende trend aan PCB's in moedermelk in Zweden (Noren & Meironyte, 2000). In beenvissen werd een significante afname aangetoond van PCB-concentraties tussen 1995 en 2003 (Gomara *et al.*, 2005), in salmoniden van het Michigan meer tussen 1972 en 1994 (Lamon *et al.*, 1998) en in Arctische zalmforel van het Vättern meer (Zweden) in de periode 1960-1996 (15% voor PCB's en 13% voor DDT) (Lindell *et al.*, 2001). In Vlaanderen rapporteerde men een daling van de ΣPCB-concentraties in palingweefsel met 7% per jaar (Maes *et al.*, in press). Deze daling is in overeenstemming met andere visstudies (Lindell *et al.*, 2001). Zo vertonen ook de tijdseries van lindaan, α-HCH, HCB, dieldrin en eldrin een dalende trend. Een opmerkelijke uitzondering voor deze trend is *p,p'*-DDT. Het lineair model voorspelde een lineaire toename terwijl tegelijkertijd *p,p'*-DDD en *p,p'*-DDE een significante daling vertoonden (Maes *et al.*, in press). *p,p'*-DDT-concentraties daalden tussen 1994 en 2001 en namen opnieuw toe vanaf 2002. Op het eerste zicht is de verhouding tussen DDE en DDT in alle geanalyseerde palingen > 1, ervan uitgaand dat de overblijvende DDT niet recent toegepast werd. Toch neemt de verhouding DDE - DDT op sommige locaties in een paar jaar tijd snel af met een factor drie. Maes *et al.* (in press) veronderstellen dat zo een sterke daling, zelfs al is de verhouding groter dan 1, wijst op een recente toepassing van DDT en dat de stock dus nog steeds niet uitgeput is. Deze resultaten samen met het feit dat recent onderzochte menselijke bloedstalen, vooral van jonge mensen die buiten de stedelijke gebieden leven, nog steeds DDT bevatten (Steunpunt Milieu en Gezondheid, 2006), zou regionale politici ertoe moeten drijven om de overblijvende stock aan verboden pesticiden te verzamelen (Maes *et al.*, in press).

Hoewel de gemiddelde polluentconcentraties niet substantieel verschillen tussen de vergeleken rivierbekkens, is het wel opvallend dat de maximale waarden die in de Vlaamse paling aangetroffen worden tot de hoogste concentraties behoren die in de literatuur teruggevonden worden. Dit kan gedeeltelijk te wijten zijn aan de grote aantallen palingstalen die onderzocht werden. Nochtans gebruikten Goemans *et al.* (2003) de resultaten van ongepubliceerde studies rond contaminant concentraties in paling uit Europa en concludeerden dat er in Vlaanderen toch een neiging is naar extreem hoge waarden. Dit geldt vooral voor PCB's, lindaan, endrin en dieldrin. Voor zware metalen en andere polluenten die niet in deze studie opgenomen zijn, geldt hetzelfde (Maes *et al.*, in press). In het bijzonder voor gebromeerde vlamvertragers werden extreem hoge concentraties aangetroffen op een staalnameplaats in de nabijheid van textielindustrie. De gemiddelde PCB-vervuiling in Vlaamse paling valt binnen de concentraties gerapporteerd voor West-Europa maar men moet rekening houden met extreme waarden van bepaalde polluenten die kunnen aangetroffen worden (Maes *et al.*, in press). Daarom wordt aangeraden om de consumptie van in het wild gevangen paling af te raden.

III.11. Conclusies

Algemeen kan men concluderen dat in Vlaanderen (Maes *et* al., in press):

1) in 76% van de geanalyseerde palingen en 78% van de bemonsterde locaties de Belgische PCB-consumptienorm voor vis (75 $ng.g^{-1}$ versgewicht) wordt overschreden.

2) in het noordwesten van Vlaanderen er een ernstige lindaanvervuiling is.
3) een groot aantal reeds lange tijd verboden pesticiden nog steeds in aanzienlijke concentraties worden teruggevonden in onze voedselketen.
4) een aantal locaties zeer hoge concentraties aan gebromeerde vlamvertragers bevat.

IV. De ecotoxicologische effecten van verontreinigende stoffen

Door industriële en huishoudelijke lozingen en agrarische activiteiten zijn grote hoeveelheden verontreinigende stoffen in de waterlopen terechtgekomen. Veel van die vervuiling is in de waterbodems (sediment) terechtgekomen waarin vissen hun voedsel zoeken. De gehaltes aan polluenten kunnen in het sediment tot 1000 maal hoger liggen dan de concentraties in de bovenstaande waterkolom (VMM, 2002). De kwaliteit van de waterbodem maakt dus integraal deel uit van het aquatische ecosysteem en is een belangrijke aanvoerader van verontreinigende stoffen voor bentisch levende soorten. Via hun voedsel nemen vissen deze stoffen op.

Vissen zullen reageren op de aanwezigheid van polluenten door het aanpassen of veranderen van hun metabolische functies. Afhankelijk van de verscheidenheid van de gebruikte biomerkers bij ecotoxicologisch onderzoek, is er een voorkeur voor parameters die gerelateerd zijn aan de enzymatische xenobiotische detoxificatie en activiteit (biotransformatie) (Pacheco & Santos, 2002).
Het activeren van xenobiotische stoffen in het lichaam leidt tot de aanmaak van potentieel schadelijke oxyradicalen die reageren met vele biologische moleculen waaronder ook DNA (Di Guilio *et al*., 1989). Met andere woorden ook de DNA-integriteit kan aangetast worden. Wanneer de mogelijke risico's in beschouwing genomen worden die geassocieerd zijn met beschadigingen in het DNA, dan is het duidelijk dat de uitvoering van DNA-adductoren (Harvey *et al*., 1997), DNA-strand breaks (Everaarts, 1995), micronuclei (Jaylet *et al*., 1986) en abnormaliteiten in de erytrocytkernen (Pacheco & Santos, 1996; 1999) uitermate belangrijk is. Het verstoren van de biologische levensprocessen op moleculair en subcellulair niveau door xenobioten leidt vaak tot celschade die op zijn beurt resulteert in degeneratieve en neoplastische ziekten in de doelorganen (Pacheco & Santos, 2002).
Histopathologische biomerkers hebben bewezen om bruikbare complementaire indicatoren te zijn voor toxiciteit in visorganen (Schwaiger *et al*., 1996; Teh *et al*., 1997). De informatie die door elke individuele biomerker gegeven wordt, heeft maar een beperkte relevantie omdat er een grote kans is op foute interpretaties. Moore & Simpson (1992) benadrukken dat biomerkers het best gebruikt worden als een testbatterij in plaats van individueel. Daarom kan het koppelen van de resultaten die op de verschillende biologische niveaus zoals moleculair (biotransformatisch metabolisme), subcellulair niveau (genotoxische expressie) en cellulair weefsel (histopathologische effecten) leiden tot een substantiële verbetering in de kennis van geïntegreerde vistoxiciteit respons (Pacheco & Santos, 2002).

IV.1. Polychloorbifenylen (PCB's)

Zoals reeds eerder vermeld hebben PCB's verschillende eigenschappen die een probleem vormen wanneer ze in het milieu terechtkomen. Hiervan zijn chemische en biologische persistentie en lipofiliteit de belangrijkste. PCB's worden in het milieu slecht en langzaam afgebroken waardoor ze in alle milieucompartimenten verspreid geraken en ze zijn sterk lipofiel. Bijgevolg accumuleren ze vooral in aquatische organismen en predatoren aan de top van de voedselketen o.a. paling. Dat PCB's in ons milieu voorkwamen, werd reeds in 1966 duidelijk toen PCB's aangetroffen werden in zeearend (*Heliaeetus leucocephalus*) en in andere visetende vogels (dalend aantal broed en toegenomen sterfte van de jongen), nerts (*Mustela vison*) en otters (*Lutra canadensis*) (Risebrough *et al.*, 1968; Holmes *et al.*, 1967; Wren, 1991; Giesy *et al.*, 1994a). In de beginjaren 1970 werd verder melding gemaakt van

een verminderd uitkomen van zalmeieren toegeschreven aan een te hoge concentratie van PCB's (Johansson *et al*., 1970) en ook dat PCB's en gechloreerde dioxines bij regenboogforel (*Salvelinus namaycush*) de natuurlijke reproductie verstoorden (USFWS, 1981; Spitsbergen *et al*., 1991).

Van de 209 PCB-congeneren krijgen deze met een coplanaire structuur de grootste aandacht omwille van hun toxiciteit die gerelateerd is aan de structurele gelijkenis met 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxine (TCDD), het meest toxische en het prototype van de gehalogeneerde aromatische koolwaterstoffen (Regala *et al.*, 2001). De mate van toxiciteit stemt overeen met de sterkte van de bindingsaffiniteit met de cytosol arylkoolwaterstofreceptor (Ahr) (Kafafi *et al.*, 1993), die een veelbeschreven transcriptiefactor is voor verschillende genproducten waaronder het cytochroom P450 (Hahn & Stegemann, 1994). PCB126 bijvoorbeeld is door zijn gelijkenis aan TCDD zeer toxisch al zal het in mindere mate zijn (Regala *et al.*, 2001; Kafafi *et al.*, 1993).

IV.1.1. Potentiële effecten van PCB's op paling

Literatuuroverzichten wijzen steeds op een verband tussen de concentratie van verschillende xenofobe componenten in het water en de contaminatie - en daarmee samenhangend - de gezondheid van paling. Een aantal studies naar de effecten van contaminanten op de reproductie van vissen komt tot het besluit dat er een verband bestaat tussen de contaminatie van het aquatisch milieu en het broedsucces van paling (Kime, 1995; Brion *et al*., 1998; fide Robinet & Feunteun, 2002). Bruijs *et al*. (2002) en Robinet & Feunteun (2002) gaven een overzicht van de effecten van PCB's op paling. De toelichting in deze tekst is een samenvatting van hun resultaten aangevuld met gegevens uit de literatuur.
Paling is door zijn bijzondere levenscyclus als soort zeer gevoelig voor de toxische effecten van PCB's. Deze kunnen plaatsvinden op verschillende momenten in de levenscyclus: tijdens de opgroeifase, het verzilveren tot schieraal, de migratie, bij de aanmaak van de geslachtsproducten en de ontwikkeling van de larven. In de opgroeifase van paling zullen de effecten zich het minst doen gelden omdat PCB's in het vetweefsel opgeslagen worden. De invloed van PCB's begint pas echt wanneer bij paling tal van morfologische veranderingen plaatsvinden onder invloed van hormonen, wanneer het dier verzilvert tot schieraal. Tijdens de migratie naar hun paaigebied in de Sargassozee, stopt paling met eten en teert op zijn vetvoorraad. Tijdens deze tocht verbruiken palingen zo'n 60% van hun vetvoorraden (van Ginneken & van den Thillart, 2000). Dit betekent dat een gedeelte van de geaccumuleerde PCB's opnieuw beschikbaar wordt. Een continue vetverbranding betekent een continue beschikking over PCB's en een (hoge) mate van toxiciteit in paling, ondanks dat een gedeelte opnieuw opgeslagen wordt in het overgebleven vetweefsel. Een dergelijke PCB-vergiftiging leidt tot verstoringen van het immuunsysteem, het voortplantingssysteem, het zenuwstelsel en het endocrien systeem. Concreet betekent dit dat deze toxificatie leidt tot fysiologische verstoringen, verminderde endocriene stress respons en verminderde weerstand tegen infecties van virussen en parasieten, wat op zijn beurt weer leidt tot een verstoorde voortplanting en zelfs direct tot de dood van de paling. PCB's kunnen dus een belangrijke rol spelen bij de achteruitgang van de soort.
Feunteun (2002) stelt dat de bioaccumulatiewaarde van paling die een paar jaren in rivieren geleefd heeft, kan gezien worden als indicatief voor hun fitness omdat sterk gepollueerde paling minder efficient detoxificeert, een mindere conditie heeft en minder succesvolle paaiers zijn.

Een studie uitgevoerd door De Boer *et al.* (1993) bracht aan het licht dat 85-90% van de toxische effecten van PCB's veroorzaakt wordt door de PCB's 126, 156 en 118, die het meest in industriële doelen gebruikt worden. Daarnaast werd eveneens door De Boer *et al.* (1994) aangetoond dat éénmaal PCB's geaccumuleerd zijn in palingweefsel de halfwaardetijden in de grootteorde van jaren liggen (1-4

jaren). Voor de hogere gechloreerde bifenylen (CB's; hexa-octa-CB's) werd er zelfs helemaal geen eliminatie aangetroffen, d.w.z. dat deze stoffen het organisme nooit meer verlaten.
Hieronder worden de verschillende systemen besproken die door PCB-vergiftiging verstoord kunnen worden.

A. Enzymrespons

Zoals reeds eerder aangehaald bezitten organismen enzymsystemen die lichaamsvreemde stoffen omvormen en uitscheiden, ook wel het mono-oxygenase systeem genoemd. De enzymen van dit systeem, waarvan de hoogste concentraties in de lever worden aangetroffen en verscheidene conjugerende enzymen helpen dieren verontreinigingen te ontgiften, te verwijderen uit weefsels en uit te scheiden naar het omringende milieu. Het merendeel van de PCB's kan echter niet of slechts in zeer beperkte mate door enzymsystemen gedetoxificeerd worden. De snelste manier om van de PCB's af te komen is dus door ze op te slaan in het vetweefsel, een metabolisch relatief inactieve compartiment (Bruijs *et al.*, 2002). Dit detoxificatie mechanisme (mono-oxygenase systeem) kan van nature onderdrukt worden door hormonale factoren zoals steroïdhormonen welke belangrijk zijn bij hormonale veranderingen gedurende het paaiseizoen, maar ook door temperatuur, geslacht, leeftijd en voedingstoestand. Voortplantingshormonen reguleren de seizoensveranderingen in de mono-oxygenase activiteit en bij veel vissoorten neemt deze activiteit door natuurlijke factoren af, vlak voor het paaiseizoen (Walton *et al*., 1983). Het detoxificatie mechanisme wordt bij vissen echter ook gestimuleerd door lichaamsvreemde chemicaliën zoals PCB's (Melancon *et al*., 1981; Ankley *et al.*, 1986; Kleinow *et al*., 1987). Dit werd o.a. aangetoond door hoge waarden aan mono-oxygenase activiteit in vislever in de Rijn stroomafwaarts van een PCB-verbrandingsfabriek (Monod *et al*., 1988). Andere voorbeelden van PCB-geïnduceerde mono-oxygenase activiteit in vislever worden voorgesteld in Tabel 4.1. Wanneer de enzymenactiviteit verhoogd wordt, kan het steroïdhormoon gehalte in het bloed dalen, met alle gevolgen van dien. Daarnaast kan een hoge mono-oxygenase activiteit ook direct de levensvatbaarheid van geslachtscellen, bevruchting van de eicel en embryonale ontwikkeling nadelig beïnvloeden (Spies & Rice, 1988).

Tabel 4.1: PCB-geïnduceerde mono-oxygenase activiteit bij verschillende vissoorten (Kleinow *et al*., 1987).

Vissoort	Weefseltype	Referentie
beekforel	lever	Addison *et al*., 1978
cohozalm	lever	Gruger *et al*., 1976
regenboogforel	lever	Lidman *et al*., 1976; Sivarajah *et al*., 1978; Elcombe & Lech, 1979
meerval	lever	Hill *et al*., 1976
karper	lever	Sivarajah *et al*.,1978
	lever en nieren	Melancon *et al*., 1981
Archosargus probatocephalus	lever	James & Little, 1981
levendbarende tandkarper	lever	Binder & Stegeman, 1980
harder	lever	Narbonne & Gallis, 1979

Jimenez *et al*. (1988) toonden aan dat vis die honger lijdt, een lagere mono-oxygenase activiteit heeft dan goed doorvoede vis. Voedsel kan bijgevolg ook de activiteit van de detoxificatie enzymen beïnvloeden maar Jimenez & Burtis (1989) bewezen eveneens dat polluenten nog steeds de mono-oxygenase activiteit kunnen induceren bij vis die gedurende twee weken vastte. Bij paling, die verondersteld wordt om gedurende zijn migratie (ongeveer zes maanden; Jimenez & Burtis, 1989) te vasten

zal bijgevolg de mono-oxygenase activiteit steeds sneller geïnduceerd worden door een toenemende PCB-concentratie in het lichaam ten gevolge van het vrijstellen uit het vetweefsel. Bovendien kan, wanneer het effect van het vasten de mono-oxygenase activiteit onderdrukt, het schadelijke effect van de PCB's nog tot uiting komen omwille van de hoge concentraties in het lichaam.
Bruijs *et al*. (2002) stellen dat inductie van de mono-oxygenase activiteit gedurende de voortplanting, het broedsucces van paling danig kan beïnvloeden en kan leiden tot een daling in de aantallen jonge paling. Daarom is het effect van PCB's op de mono-oxygenase activiteit een belangrijk mechanisme langs hetwelk PCB's de palingpopulaties schade kunnen toebrengen (Bruijs *et al*., 2002).

Maes *et al.* (2005) vonden geen correlatie tussen de palinglengte en de aanwezigheid van zware metalen (Hg, Cd, Pb, Cu, Zn, Ni, Cr,As en Se) waardoor mag aangenomen worden dat de capaciteit van individuen om te detoxificeren niet gerelateerd is aan hun grootte. Wel vonden ze bij residente paling een duidelijk verband tussen het bioaccumulatie niveau en een slechtere conditie. Daarnaast vonden ze ook een verband tussen pollutie en een lagere individuele allozymatische genetische variabiliteit en in twee post hoc gedefinieerde groepen van verschillende pollutieniveaus (Maes *et al.*, 2005). Sterk gepollueerde individuen hebben meer energie nodig voor hun detoxificatie en zijn in het algemeen in een slechtere conditie terwijl meer heterozygote individuen minder accumuleren (Maes *et al*., 2005). Heterozygoten zijn immers beter beschermd tegen milieuveranderingen en superieur omwille van hun multimerische enzymen (Nevo *et al*., 1986).

B. Endocrien systeem

Bij vissoorten die migreren tussen zoetwater en zoutwater milieus worden endocriene mechanismen ingeschakeld om de veranderde osmotische condities op te vangen. Bij paling betreft de aanpassing aan het zoute milieu een eenmalige metamorfose, het dier wordt schieraal, waarbij de endocriene hormonen een belangrijke rol spelen. Palingen overleven de stressvolle situatie van zoet naar zout water alleen wanneer hun endocrien systeem niet verstoord is. Dit wordt nauwkeurig gereguleerd vanuit een aantal gespecialiseerde klieren welke verschillende hormonen synthetiseren en afgeven onder controle (positief en negatief) van de zogenaamde hypothalamus-hypofyse-bijnier as (HPI-as). In beenvissen wordt de HPI-as geactiveerd door een brede waaier aan stressoren (Wendelaar Bonga, 1997). In het geval van paling is de stressprikkel de verandering van saliniteit. Verstoring van het stressgerelateerde endocrien systeem verstoort de fysiologische processen en vermindert de mogelijkheid om met additionele stress om te gaan. PCB's en andere toxische stoffen gaan een interactie aan met verscheidene endocriene controlemechanismen (Brouwer *et al.*, 1990; Goksøyr & Förlin, 1992; McKinney & Walter, 1994; Barron *et al.*, 1995).
Bij zoogdieren is allang bekend dat endocriene weefsels beïnvloed worden door PCB's (review Birnbaum, 1994). Hontela *et al*. (1992; 1995) toonden echter aan dat volwassen gele baars (*Perca flavescens*) en snoek (*Esox lucius*) uit PCB-gecontamineerde gebieden een beschadigde stress respons vertoonden na vangst en behandeling. PCB's interfereren met het neuro-endocrien systeem, vooral bij het uitoefenen van oestrogene effecten (Soontornchat *et al*., 1994). Ze kunnen interfereren met de corticosteroïdogenese en de corticosteroïde activiteit zoals door Barron *et al*. (1995) beschreven is voor de gonadosteroïdogenese en met de thyroïdhormoon synthese (McKinney & Waller, 1994; Murk *et al*., 1994a). De thyroïdhormonen spelen een rol bij de allereerste ontwikkelingen van vissen (Sullivan *et al.*, 1987). T_3 (3,5,3'-triiodo-L-thyronine) is een actieve vorm van het thyroïdhormoon dat belangrijk is voor de stimulatie van de (vis)groei en de vroege ontwikkeling van de ovaria (Eales & MacLatchy, 1989). De systematische omzetting van T_4 (thyroxine) naar T_3 is de belangrijkste bron van T_3-productie (Leatherland, 1987). Verder werd er reeds in 1946 gerapporteerd dat thyroïdhormonen de metamorfose van leptocephali larven kunnen teweegbrengen (Vilter, 1946). Cortisol, waarvan de con-

centratie toeneemt onder stress omstandigheden, beïnvloedt de thyroïdactiviteit door de plasma T_3-concentratie te laten afnemen (Leatherland, 1985; Vijayan & Leatherhand, 1989). Redding *et al*. (1986) ontdekten dat bij chronisch vastende paling de *in vivo* conversie van T_4 naar T_3 afneemt en de T_3-plasmawaarden doet dalen. Door de grote structurele overeenkomst tussen thyroïdhormonen en bepaalde PCB-metabolieten (Brouwer *et al.*, 1990; Murk *et al*., 1998) treden deze metabolieten in competitie met het thyroïdhormoon om te binden aan het thyroxine (T_4), wat aanleiding geeft tot een verhoging van het vrij thyroxine en bijgevolg een bijna volledige eliminatie van het thyroxine in het plasma veroorzaakt, wat op zijn beurt weer leidt tot een dalende T_3-productie.

Andere studies die de actiemechanismen van de onderliggende effecten van PCB's op endocriene weefsels onder de loep namen, onthulden dat PCB's kunnen interfereren met de steroïdogenese en de steroïdreceptoren (vissen: McKinney & Waller, 1994), met de mixed-function oxygenase systemen die betrokken zijn bij het steroïdmetabolisme (dieren: Goksøyr & Förlin, 1992) en dat ze in staat zijn om met de Ah-receptor (arylkoolwaterstofreceptor) te binden die verondersteld wordt om de toxische effecten van PCB's te beperken (vissen: McConnell, 1985; vogels: Nebert, 1989; Safe, 1990).

Quabius *et al*. (1997) onderzochten of de stress respons en meer bepaald de HPI-as bij tilapia (*Oreochromis mossambicus*) beïnvloed wordt door korte termijn blootstelling aan PCB126. Hiervoor werden zowel vrouwtjes als mannetjes gedurende vijf dagen op een dieet gezet dat gecontamineerd was met PCB126 (50 µg kg^{-1} vis/dag). In een eerste experiment werd het effect van de stress respons op de vangst onderzocht. De met PCB-gevoerde vissen vertoonden lagere cortisolwaarden dan de controlevissen wat erop wijst dat tilapia die blootgesteld is aan PCB's niet in staat is om de steroïdogenese acuut te activeren. Verder werd aangetoond dat ook de ACTH en cAMP-gestimuleerde vrijstelling van cortisol door de nieren veel lager is bij de controlevissen. Deze resultaten wijzen, tezamen met de hoge concentraties aan PCB126 in de nieren van de blootgestelde vissen, op directe toxische effecten op de "interrenale cellen". In een tweede experiment werden de vissen op het einde van de blootstellingperiode bekeken in rust of na twee stressvolle uren. De resultaten toonden aan dat het basaal plasma cortisol en de ACTH-waarden niet beïnvloed werden door de PCB-behandeling maar dat de basale ACTH-inhoud van de rostrale pars distalis van de hypofyse van PCB gevoerde vissen lager was dan bij de controlevissen. Algemeen kan men besluiten dat PCB126 (oraal toegediend) de gevoeligheid van de HPI-as bij tilapia beïnvloedt (verhinderen van de ACTH-activiteit van de cortisol producerende interrenale cellen).

C. Immuunrespons

Om zich tegen pathogenen zoals parasieten, bacteriën en virussen te wapenen, beschikt paling net als alle andere gewervelden, over een immuunsysteem. Bij beenvissen zijn de mechanismen in grote lijnen gelijk aan die van zoogdieren. De cellen en organen die betrokken zijn in de immuunrespons werken samen bij de overdracht van biochemische signalen. Deze zijn ontvankelijk voor de inwerking van specifieke chemicaliën, de zogenaamde immunomodulatie, wat de inductie, blokkering, versterking of vermindering en opeenvolgende stappen van de verschillende defensieorganismen omvat. Verstoring van het immuunsysteem door lichaamsvreemde chemicaliën kan leiden tot een onderdrukking van het immuunsysteem, de zogenaamde immunorespons. Hierdoor wordt het dier gevoeliger voor pathogenen uit het milieu. Zo werd door Vethaak & Reinhalt (1992) aangetoond dat in verschillende kustgebieden die PCB-gecontamineerde sedimenten bevatten er een toegenomen ziekteverspreiding was bij bentische vissoorten. Ook andere studies toonden een verstoorde immuunfunctie aan bij gecontamineerde vissen van binnenwateren (Warriner *et al*, 1988; Weeks *et al.*, 1990; Arkoosh *et al.*, 1991). Andere experimenten suggereerden dat blootstelling aan PCB's door injectie of via voe-

ding ook immunotoxische effecten kan veroorzaken (Thuvander & Carlstein, 1991; Thuvander *et al.*, 1993; Arkoosh *et al.*, 1994; Rice & Schlenk, 1995). Sures & Knopf (2004) onderzochten de invloed van individuele en gecombineerde effecten van cadmium en PCB126 op experimenteel geïnfecteerde paling met de parasiet *Anguillicola crassus*. Ze ontdekten dat de ontwikkeling van de parasiet niet beïnvloed werd door de blootstelling aan beide stoffen. Ook de immuunrespons bij geïnfecteerde paling zonder blootstelling aan contaminanten en bij geïnfecteerde paling die uitsluitend aan Cd blootgesteld werd (waterige oplossing ~22 µg l^{-1}), werd niet onderdrukt maar blootstelling aan PCB126 (100 $ng.g^{-1}$ versgewicht) alleen of in combinatie met Cd daarentegen onderdrukt deze respons wel. Deze resultaten wijzen nogmaals op het feit dat gastheren die blootgesteld worden aan pollutie veel gemakkelijker geïnfecteerd kunnen geraken dan hun niet gecontamineerde soortgenoten. Sures & Knopf (2004) wijzen er ook op dat uit de literatuur blijkt dat de cadmiumconcentraties die in dit experiment gebruikt werden niet hoog genoeg waren om de immuunrespons van de Europese paling te onderdrukken. Bovendien lijkt het erop dat paling, gezien hij in staat is om te overleven in verontreinigde waters en grote hoeveelheden zware metalen kan opslaan, hij niet gevoelig genoeg is om veranderingen in zijn immuunrespons te vertonen bij lage cadmiumvervuiling.

De immuunrespons is dus belangrijk om op een succesvolle manier te kunnen omgaan met milieuveranderingen (Sumpter, 1997; Wendelaar Bonga, 1997). Voor paling houdt dit de migratie van zoet naar zoutwater in. Een afgenomen immuniteitsrespons kan leiden tot infecties door parasieten maar evengoed tot een verstoorde energiebalans en een verstoorde gonadenontwikkeling met als gevolg een verminderde reproductie (Barton & Iwama, 1976). Bij een deficiëntie van het immuunsysteem, kunnen parasieten en ziekten toeslaan wat eventueel kan leiden tot de dood van de paling, zelfs nog voor hij de paaigronden bereikt heeft. Wanneer dit op grote schaal plaatsvindt, zal een groot deel van de populatie niet in staat zijn om zich voort te planten. Het is mogelijk dat zilverpalingen hun paaigronden dus niet bereiken ten gevolge van een verminderd immuunsysteem.

Brouwer *et al.*, (1989) ontdekten een PCB-geïnduceerde reductie van het plasma retinol en van thyroxine- en triiodothyronineconcentraties in met PCB's gecontamineerde zeehonden (*Phoca vitulina*) en suggereerde een mogelijk mechanisme dat de vervuiling koppelde aan gevoeligheid voor microbiële infecties, reproductieve en andere pathologische aarden (zie verder). PCB's blijken ook het vitamine A gehalte in de lever te beïnvloeden. Doch de gevolgen van een verlaagd vitamine A gehalte in de lever van vissen is onbekend maar kan invloed hebben op de celgroei en de celdifferentiatie en zo een rol spelen bij de ontwikkeling van tumoren (Brouwer, 1987).

D. Verzilvering

Een groot aantal studies wees er reeds op dat het zilveringsproces met de daaropvolgende stroomafwaartse en transoceanische migratie naar de paaigronden en de rijping van de gonaden enkel kan plaatsvinden wanneer een voldoende grote energievoorraad in de vorm van vetten gestockeerd is. Tijdens de groei worden water en proteïnen gestaag omgezet naar vetten (lipiden en lipoproteïnen; Degani *et al.*, 1986). Boëtius & Boëtius (1980) schatten dat de totale hoeveelheid gestockeerde vetten meer dan 20% van het lichaamsgewicht van een vrouwelijke zilverpaling moet bedragen om de migratie en succesvolle paai te kunnen volbrengen. Dit wordt door van den Thillart *et al*. (2004; 2005) bevestigd die stellen dat 60% van de totale vetreserve van zilverpaling nodig is om de 5 à 6000 km te zwemmen.
Dit vetmetabolisme kan door verschillende polluenten beïnvloed worden door verstoring van de schildklierwerking (Leatherland, 1987; Singh, 1989). Schildklierhormonen spelen een rol bij GtH-afhankelijke steroïdogenese (gonadotrofine hormoon) (Cyr & Eales, 1988), bij de rijping van oöcyten

(Dickhoff *et al.*, 1989; Weber *et al.*, 1992) en bij de levensvatbaarheid van het broed (Brown *et al.*, 1989). Een aantal veel voorkomende polluenten kunnen de schildklierwerking verstoren bij vissen. Tot deze groep behoren: γ-HCH of lindaan (organochloor verbinding; Yadav & Singh, 1987), malathion (organofosfor component; Lal & Singh, 1987; Singh, 1992), endosulfaan (organochloor verbinding; Murty & Devi, 1982), 2,3,7,8-PCDD en –PCDF (dioxine en gehalogeneerde furaan; Safe, 1990), een aantal PCB's (in het bijzonder de *para*- en *meta*vorm van 2,3,7,8-TCDD, Safe, 1990) en PAK's (polycyclische aromatische koolwaterstoffen; Leatherland & Sonstegard, 1977; 1978; 1980).

In ander onderzoek werd de invloed van milieufactoren op het overmatig gebruik van de vetreserves nagegaan. Bij beenvissen is het corticoïdhormoon, cortisol een indicator (Hontela, 1997; 1998) voor stress ten gevolge van milieufactoren (vangen, predatie, stortvloeden en waterafvoer, Haux *et al.*, 1985; Schreck, 1990) of chemische stress (blootstelling aan polluenten (Barton *et al.*, 1987; Hontela *et al.*, 1992; Hontela, 1998) en blootstelling aan cyanobacterische toxines (Bury *et al.*, 1996)). Cortisolpieken leiden tot lysis (afbraak) van spieren en levervetten (Freeman & Idler, 1973; Davis *et al.*, 1985; Barton *et al.*, 1987; Mommsen *et al.*, 1999) en vervolgens tot een toegenomen glucoseconcentratie in het plasma om tengevolge van de stress de energie zo snel mogelijk beschikbaar te stellen. Deze lipolyse doet de energiereserves van zilverpaling afnemen en stelt vetzuren vrij in het bloed die gebruikt worden voor lever glycogeensynthese (glucogenese). Chan & Woo (1978) troffen deze fenomenen reeds aan bij *Anguilla japonica* en Dave *et al.* (1979), Lidman *et al.* (1979) en Gimeno *et al.* (1995) troffen ze aan bij *Anguilla anguilla*. Langdurige chemische stress leidt tot hyperactiviteit van de hypofysecellen en zo tot uitputting van het hypothalamo-hypofyso-adrenaline systeem en de productie van cortisol (Hontela, 1997). De cortisolproductie is op zijn beurt verantwoordelijk voor de lipolyse die de energie accumulatie in palingen negatief beïnvloedt. Deze overdreven lipolyse zou de verzilvering en de daaraan gerelateerde migratie vertragen tot voldoende vet gestockeerd is bij de paling.
Recente studies uitgevoerd in Europa laten zien dat de concentraties aan persistente pesticiden (lindaan, dieldrin, DDE, organochloriden) variëren tussen 0,03 en 7,5 µg g^{-1} (lichaamsgewicht) met hogere waarden van 8,2 µg g^{-1} in spiervetten (Nederland). PCB-concentraties in palingweefsel lopen op tot 33,8 µg g^{-1} (Finland) maar overstijgen meestel niet 1 µg g^{-1} (Robinet & Feunteun, 2002) (Tabel 4.2).

Tabel 4.2: Voorbeelden van gerapporteerde gemiddelde concentraties of concentratie ranges van een aantal polluenten of polluentenfamilies in weefsel van gele paling (µg g^{-1} versgewicht) tot 2002 (Robinet & Feunteun, 2002).

Weefsel	Componenten	Lichaamsconcentraties (µg g^{-1})	Locatie	Referentie
lichaam	Lindaan	0,053	Nederland (1981)	De Boer *et al*., 1994
	Dieldrin	0,036		
spier	Lindaan	0,02	Spanje (1983-1984)	Hernandez *et al*., 1987
	t-PCB's	0,19		
spier	Dieldrin	0,066-1,68	Engeland (1983)	Hamilton, 1985
	DDE	0,049-0,3		
	Lindaan	0,027-0,17		
lichaam	t-PCB's	33,8	Finland (1991)	Tulonen & Vuorinen, 1996
lichaam	Dieldrin	0,21	Engeland (1991)	Mason, 1993
	DDE	0,27		
	t-PCB's	0,91		
vet	Organochloriden	0,57-8,2	Nederland (1991)	Van der Oost *et al*., 1996

	t-PCB's	5,6-15		
	t-PAK's	11-39		
spier	Dieldrin	0,01-0,1	Ierland (1993)	Weatherley *et al*., 1997
	t-PCB's	< 0,1		
vet	t-PCB's	$0{,}24 \times 10^{-5} – 17{,}05 \times 10^{-5}$	Duitsland (1996)	Wiesmüller & Schlatterer, 1999
vet	Organochloriden	0,162	Frankrijk (1996-1997)	Roche *et al*., 2000

E. Zwemcapaciteiten

Van den Thillart *et al*. (2005) onderzochten gedurende het EELREP-project "Estimation of the reproduction capacity of the European eel" de invloed van PCB's op de fysiologie en de gonadenontwikkeling bij zilverpaling gedurende een gesimuleerde migratie. Er is reeds geweten dat zolang de contaminanten opgeslagen zitten in de vetten, de toxische effecten gering blijven. Maar wanneer de migratie start de vetten geoxideerd worden en de PCB's vrijkomen, bestaat er een grote kans dat de PCB-waarden in het bloedplasma zullen toenemen tot toxische niveaus. Paling zal immers, als katadrome vissoort, voor zijn migratie vetten opslaan in zijn spieren zowel als energiebron als voor de ontwikkeling van de gonaden tijdens de migratie. Van den Thillart *et al*. (2005) melden dat gecontamineerde paling tot 1,5 keer meer gewicht verliest tijdens de migratie dan niet gecontamineerde paling. Dit gewichtsverlies kan niet toegeschreven worden aan het vasten (alle palingen vasten immers tijdens de migratie) maar is eerder het resultaat van de effecten van PCB's op het intermediair metabolisme. In dit opzicht is het opmerkelijk dat bij door PCB's gecontamineerde paling hypoglycemia (daling van de bloedglucose) wordt waargenomen zoals ook aangetroffen wordt bij aan TCDD blootgestelde ratten. Van den Thillart *et al*. (2005) vroegen zich ook af of de paaimigratie van palingen een stressvolle gebeurtenis is. Secundaire indicatoren voor een stress respons zijn een stijging van het melkzuur, een toename aan kalium en glucose (van Ginneken *et al*., 2002). Geen van deze parameters nam toe bij PCB-gecontamineerde palingen en/of palingen die verplicht werden te zwemmen (zwemtunnel) wat erop wijst dat blootstelling aan PCB's in combinatie met het zwemmen niet stressvol is. Uit andere PCB-studies daarentegen is geweten dat blootstelling aan PCB's leidt tot een afname van de adrenocorticale functie. Eerder werd al een dalende cortisol respons gerapporteerd voor aan PCB's blootgestelde volwassen gele baars, snoek (Hontela *et al*., 1992; 1995) en tilapia (Quabius *et al*. 1997). Een mogelijke verklaring voor dit fenomeen kan een gereduceerde of beschadigde endocrien respons op milieustress zijn.

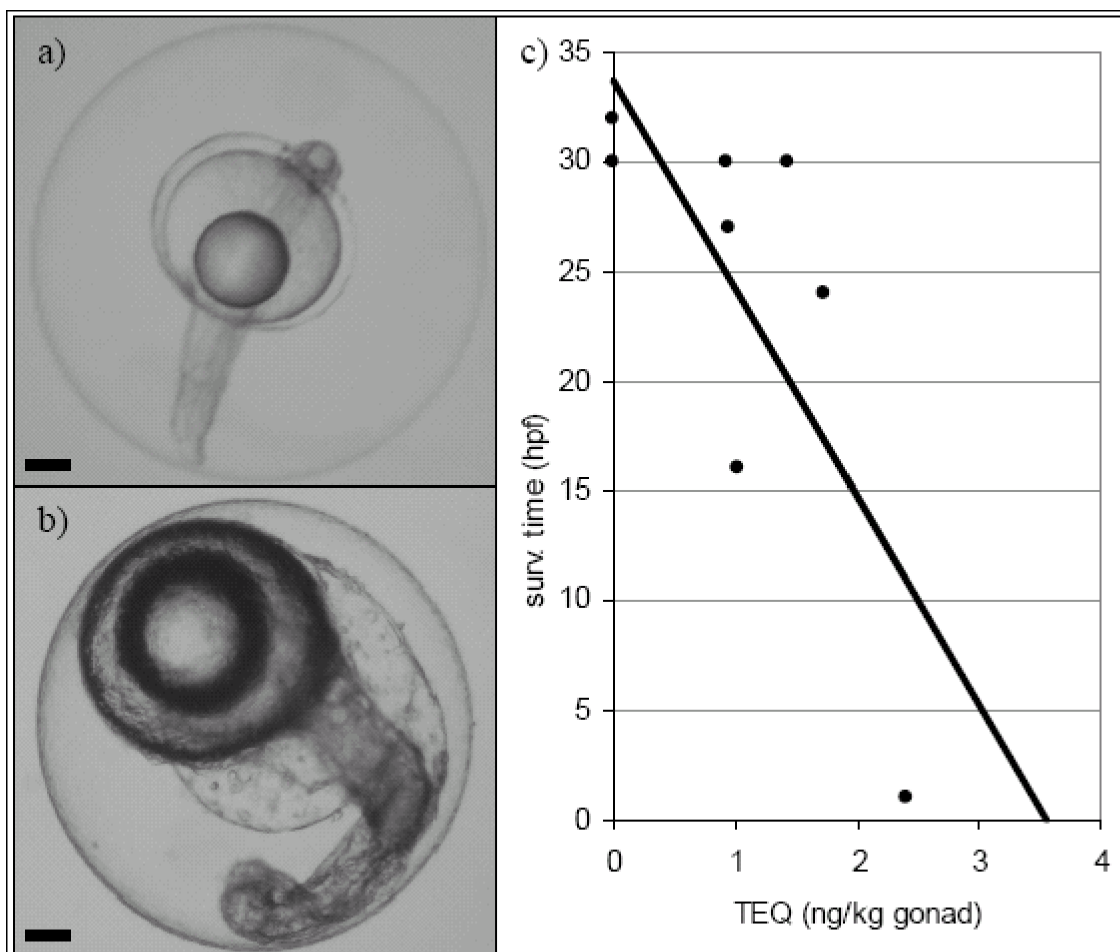
PCB's kunnen ook een immunosuppressie teweegbrengen die leidt tot een afgenomen resistentie tegen ziekten, virussen en parasieten. Zo kan het EVEX-virus in combinatie met zwemmen hemorragie veroorzaken evenals anemie en leiden tot de dood van de paling na 1000-1500 km zwemmen (van Ginneken *et al*., 2005b). Samenvattend kunnen we stellen dat PCB's de energieconsumptie van zowel zwemmende als rustende palingen drastisch verlagen ten gevolge van een onderdrukte proteïnesynthese met desastreuze gevolgen voor de vis. Daarnaast zal de concentratie aan 'beschikbare' PCB's drastisch toenemen tijdens de migratie door het verbruik van de vetreserves als brandstof voor het zwemmen (van den Thillart *et al*., 2005).

F. Reproductie

Palingen verblijven vaak in gecontamineerde sedimenten en accumuleren op deze manier hoge waarden van PCB's (van Leeuwen *et al.*, 2002). Van deze componenten werden niet alleen ongunstige effecten op de fertiliteit bij vissen aangetoond maar evengoed effecten op de fertiliteit bij amfibieën (Gutleb *et al.*, 1999) en verstoring van de oöcytrijping bij zoogdieren (Pocar *et al.*, 2003). Safe (1994) ontdekte dat deze effecten minstens voor de helft toegebracht worden door interactie met de arylkoolwaterstof receptor, die na binding getransloceerd wordt naar de celkern. Daar zal hij interageren met dioxine respons elementen en de fysiologische en ontwikkelingsprocessen. Palstra *et al*. (2006) behandelde mannelijke en vrouwelijke palingen met carp pituitary extracts (CPE) om zo een artificiële maturatie en reproductie te stimuleren. De embryonale misvormingen die tijdens deze studie aangetroffen werden, zijn typisch voor aan PCB's blootgestelde eieren zoals deze van snoek, karper (*Cyprinus carpio*), *Salvelinus namaycush* (Walbaum, 1792) en regenboogforel (Walker & Peterson 1991; Helder 1980; Stouthart *et al*. 1998; Walker *et al*. 1994) (Figuur 4.1). Gelijkaardige symptomen werden ook beschreven voor visetende vogels en staan bekend als de "*great lake embryo mortality, edema and deformities syndrome*" (GLEMEDS) (Gilbertson *et al*., 1991). Uit de resultaten van Palstra *et al*. kunnen we besluiten dat de correlatie tussen embryo overleving en TEQ-waarden in de gonaden wijzen op TEQ-geïnduceerde teratogene effecten en dat de huidige contaminatiewaarden in de gonaden van paling van de meeste Europese locaties een normale embryologische ontwikkeling verhinderen (Palstra *et al*., 2006). Er lijkt een negatieve correlatie tussen dioxineachtige contaminanten en de embryo overleving en ontwikkeling te bestaan (Figuur 4.1). Effecten treden reeds op onder de maximaal toegelaten waarde van visconsumptie (4 ng TEQ kg^{-1} vis). Monitoringsstudies (van Leeuwen *et al.*, 2002) tonen aan dat de meeste zilverpaling veel te hoge TEQ-waarden heeft. Volwassen palingen met waarden >1 ng TEQ kg^{-1} gonaden kunnen hoogst waarschijnlijk niet deelnemen aan een succesvolle voortplanting van een vitaal nageslacht. Het blijft echter moeilijk om deze drempelwaarden te extrapoleren naar referentiewaarden voor onvolwassen palingen en per kilogram spieren. Vet waarin PCB's geïncorporeerd zijn en dat oorspronkelijk uit het spierweefsel kwam, wordt ook geïncorporeerd in de oöcyten van een volwassen vrouwtje. Dit aannemende kan men de gevonden waarden extrapoleren naar ng TEQ kg^{-1} spieren in wilde zilverpaling.

Als paling de Sargassozee bereikt heeft, worden de overgebleven vetreserves gebruikt om de geslachtsproducten aan te maken. Daarbij hopen PCB's zich op in het gonadenweefsel en de geslachtsproducten van de ouderdieren. Ze zullen in de dooierzak van de eieren terechtkomen wat een duidelijke blootstellingroute is van PCB's naar larven die in hun eerste levensfase teren op de eidooier. Zoals reeds eerder vermeld werd tijdens het EELREP-project onderzoek gedaan naar de invloed van PCB's op de fysiologie en de gonadenontwikkeling bij zilverpaling gedurende een gesimuleerde migratie (Palstra *et al*., 2005). De wetenschappers onderzochten de correlatie tussen vetpercentages en PCB's versus het reproductieproces. Ze deden dit voor palingen die afkomstig waren van twee locaties: het Grevelingenmeer (Nederland) en de Loire (Frankrijk). Er bestonden geen verschillen in vetpercentages tussen de vrouwelijke palingen van beide locaties. Oudere wijfjes zijn groter en sterker maar er werd geen correlatie gevonden met de conditiefactor. Palstra *et al*. (2005) ontdekten dat oudere wijfjes meer vet incorporeren in de eitjes dan jongere wijfjes. Eitjes van zilverpalingen uit de controlegroep (geen wekelijkse behandeling met CPE (carp pituitary extract) vertoonden een hogere vetconcentratie dan spierweefsels (van den Thillart *et al*., 2005)). De totale vetpercentages werden berekend door het vetpercentage te vermenigvuldigen met het gonadaal gewicht gedeeld door het lichaamsgewicht bij de start van het experiment. De totale vetpercentages van de onbehandelde zilverpalingen (GSI gondao-somatisch index) 0,8-1,8) varieerden tussen 0,2-0,7% terwijl dit bij de behandelde zilverpalingen (GSI 15-50: wekelijks behandeld met CPE) varieerde tussen 3-11%.

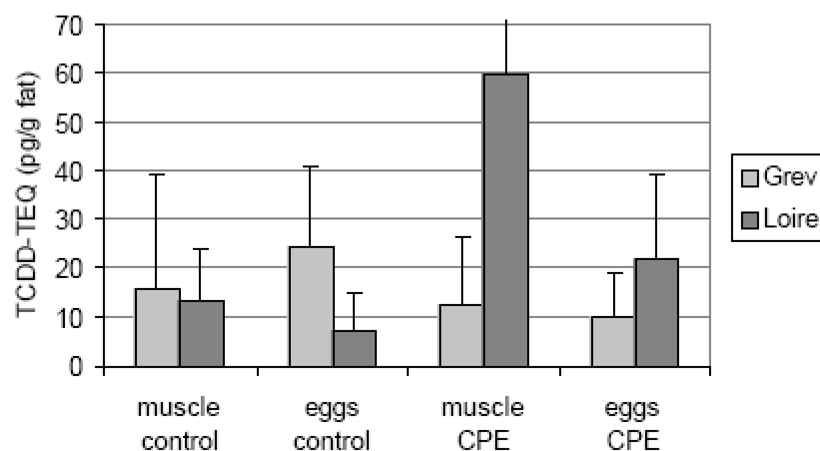
Er werd geen correlatie gevonden met de embryo-ontwikkeling. Ook de PCB-waarden waren ongelijk verdeeld tussen de spieren en de eitjes (Figuur 4.2). Er bestond een verschil tussen de TCDD-TEQ-waarden van de vrouwelijke palingen van het Grevelingenmeer en de Loire omdat twee op vier behandelde vrouwelijke palingen van de Loire relatief hoge PCB-waarden in de spieren hadden (175 en 104 pg g^{-1} vet). Er werd eveneens een sterke negatieve correlatie gevonden tussen de TCDD-TEQ-waarden in de eitjes en de embryologische ontwikkeling (p= 0,002; Figuur 4.3). Hogere PCB-waarden doen de embryologische ontwikkeling stoppen en geven aanleiding tot misvormingen. Dit gebeurde bij eitjes waarin de totale PCB-waarden (ng TCDD-TEQ kg^{-1}) varieerden tussen 0-2,4 ng kg^{-1} wat nog steeds onder de EU-standaard consumptienorm van 16 ng kg^{-1} is. Bovendien gaat het over zilverpalingen die niet zwommen waardoor de PCB-waarden niet toenamen tengevolge van de vetomzetting en de readsorptie van de vrije PCB's. Wel is het zeker dat zelfs wanneer de vrouwelijke en mannelijke palingen de paaigronden zouden bereiken en zich zouden voortplanten het nageslacht al belast is met een PCB-erfenis nog voor ze zichzelf maar kunnen voeden.



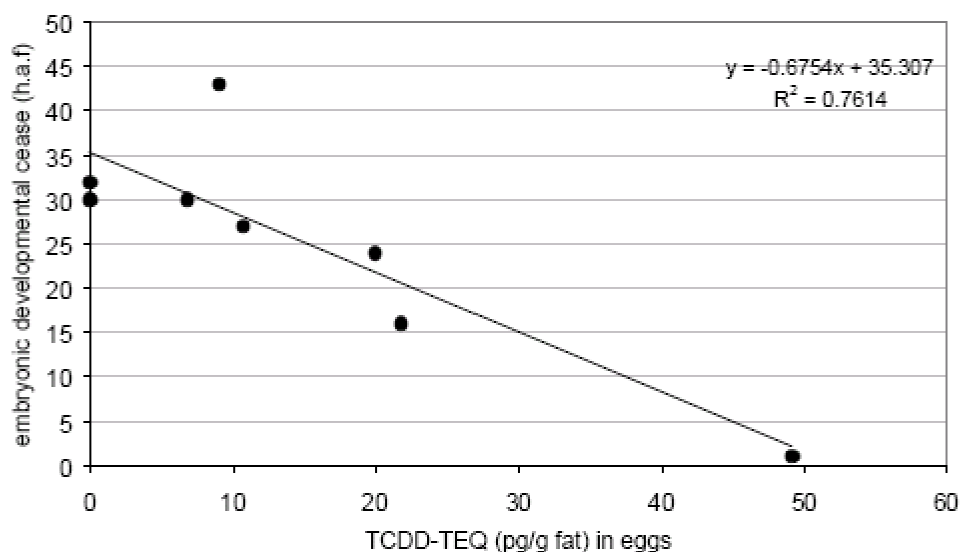
Figuur 4.1: : a) Gezonde Europese palingembryo op 30-35 uren postfertilisatie met een hartslag en dooierzak met een grote vetdruppel, b) een ouder embryo van een ongezonde groep in hetzelfde ontwikkelingsstadium met een dooierzak oedeem, vervormd hoofd en afwezigheid van een hartslag. De schaal is 100 µm. c) een negatieve correlatie tussen de totale TEQ-waarden (ng/kg gonaden) en de overlevingstijd van het embryo (uren na de bevruchting) van de bevruchte eitjes van acht met hormonen geïnduceerde palingen (Palstra *et al.*, 2006).

Ovaria concentreren dus meer contaminanten omwille van de transfer van vetten naar de eitjes via het vitellogenine (VTG) (Hodson *et al.*, 1994; Kime, 1995) en omwille van de vetvesikels in de ovariafollikels gedurende het zilveringsproces (Lopez & Fontaine, 1990; Fontaine, 1994). Eitjes concentreren lipofiele contaminanten veel gemakkelijker tijdens de vitellogenese dan somatische weefsels (Giuney

et al., 1979; Hose *et al.*, 1981; Miller, 1993). Versonnen *et al*. (2004) onderzochten gele palingen op verstoring door xeno-oestrogene stoffen maar vonden dat paling geen goede bio-indicator is voor vitellogenine verstoring. Dit besluit is in overeenstemming met wat blijkt uit Burzawa-Gerard & Dumas-Vidal (1991) en Luizi *et al*. (1997) die vonden dat hoge dosissen geïnjecteerde E2 (estradiol; minstens 5 x 0,5 mg kg^{-1} gedurende 12 dagen) nodig is om VTG-productie te induceren bij onvolwassen paling. Peters *et al*. (2001) en Livingstone *et al*. (2000) induceerden VTG bij paling door intraperitoneale injectie met hoge dosissen E2 (4 x 10 mg kg^{-1} gedurende 4 weken en 2 x 5 mg kg^{-1} gedurende 6 dagen respectievelijk). De plasma VTG-waarden waren 260000-750000 keer hoger bij blootgestelde vissen (tot 50 mg VTG ml^{-1}), vergeleken met de controles na vier weken blootstelling (Peters *et al*., 2001). Uit de studie van Versonnen *et al*. (2004) kan besloten worden dat het niet zinvol lijkt onvolwassen of niet-seksueel gedifferentieerde palingen systematisch te screenen op de aanwezigheid van VTG in bloedplasma of lever.



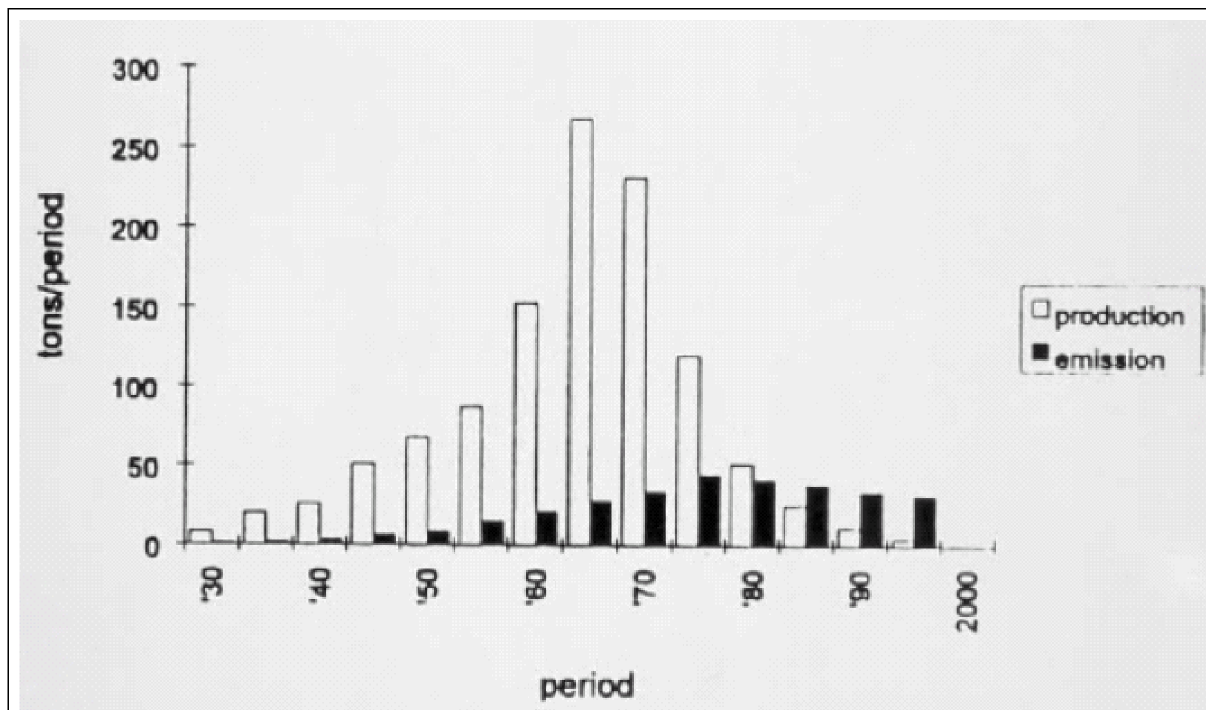
Figuur 4.2: PCB TCDD-TEQ-waarden in eitjes en spieren bij de controlegroep en bij CPE (carp pituitary extract) behandelde vrouwelijke palingen afkomstig van het Grevelingenmeer (Nederland) en de Loire (Frankrijk) (van den Thillart *et al*., 2005).



Figuur 4.3: Een sterk negatieve correlatie tussen PCB TCDD-TEQ-waarden en het stoppen van de embryologische ontwikkeling (van den Thillart *et al*., 2005).

Johnson *et al.* (1998) melden dat blootstelling aan PAK's en PCB's het broedsucces van vrouwelijke paling aanzienlijk reduceert waarbij het gemiddelde gewicht van de eitjes drastisch afneemt ten gevolge van interferentie in de ontwikkeling van de ovaria.
PAK's zijn waarschijnlijk ook verantwoordelijk voor de fysische en chemische genotoxiciteit in vissen. Dit kan breuken in het DNA veroorzaken en kan leiden tot de vorming van micronuclei in het intracytoplasmatisch chromatine. De biologische degradatie van PAK produceert katabolieten die ook interageren met het DNA (Rether *et al.*, 1997). De mogelijke schade aan het DNA kan op zijn beurt weer leiden tot het falen van de voortplanting gedurende het bevruchtingsproces.
Geaccumuleerde polluenten kunnen het hepato-ovariaal systeem verstoren tijdens de gametogenese en zo somatische lipiden in de bloedcirculatie brengen. Hierdoor wordt het plasma evenwicht van de vrije lipidecomponenten abnormaal verhoogd (vetzuren, mono-, di-, en triglyceriden, cholesterol en phosphoslipiden) en leidt tot problemen bij dooieropslag van toekomstige eieren. Lindaan (isomeer β) leidt tot een abnormale configuratie van de dooier (Wester *et al.*, 1985), vooral in de vetvesikels. Contaminanten veroorzaken in het algemeen een afname van het RGS (regeling van de G-proteïnes) (Kime, 1995) en een afname in de rekrutering op lange termijn.

Samenvattend kan gezegd worden dat paling voor de migratie 126,5 g kg^{-1} vet consumeert wat overeenkomt met 60% van de totale vetreserve van de meeste zilverpalingen. Van den Thillart *et al*. (2005) berekenden dat 36,6% van de (totale) vetreserve van zilverpaling gebruikt wordt voor het incorporeren in de eitjes. Tezamen komt dit neer op 96,6% van de totale vetreserve.
Onafhankelijk van de lengte van de paling is dus 13% vet (op basis van het lichaamsgewicht berekend) nodig voor het zwemmen en gemiddeld 7,7% (op basis van het lichaamsgewicht berekend) voor incorporatie in de eitjes wat erop wijst dat zilverpalingen een vetpercentage van 20,7% (op basis van het lichaamsgewicht berekend) moeten hebben om succesvol te migreren en zich voort te planten (van den Thillart *et al*., 2005).
PCB's hebben een schadelijke invloed op de fertiliteit van paling doordat ze de kwaliteit van de eitjes beschadigen en een nefaste invloed hebben op de embryonale ontwikkeling. Dit zou betekenen dat palingen, afkomstig uit gebieden met hoge PCB-concentraties niet deelnemen aan een succesvolle voortplanting van een vitaal nageslacht, ook al hebben ze een hoge score in reproductieve capaciteiten. Bovendien komt de piek in de uitstoot van PCB's overeen met de achteruitgang van paling (Figuur 4.4) (Palstra *et al*., 2006).



Figuur 4.4: De geschatte productie en emissie van PCB's in de OESO-landen (van Leeuwen & Hermens, 1995).

IV.1.2. Potentiële effecten van PCB's op palingpredatoren

Reeds in 1980 werd een verband gelegd tussen het PCB-gehalte bij vissen in de Waddenzee en de verminderde vruchtbaarheid bij zeehonden aldaar (Reijnders, 1980). Een groep van twaalf zeehonden werden gevoed met vis uit de Atlantische Oceaan. Een andere groep van twaalf kreeg vis afkomstig uit de Waddenzee. De voedingswaarde van beide diëten was glijk; het grote verschil zat in het gehalte aan PCB's en DDT in de vis. Drie mannelijke zeehonden werden gevoerd met 'schone' Atlantische vis. Ze kregen alledrie de gelegenheid om vrouwtjes uit beide groepen te dekken. De Atlantische groep kreeg twee keer zoveel nakomelingen als de groep gevoerd met vis uit de Waddenzee. In eerste instantie leek dat weinig te maken te hebben met de hormoonstatus. De concentraties aan vrouwelijke geslachtshormonen progesteron of oestradiol liepen niet uiteen. Wel bleek dat de groep die 'vervuilde' vis kreeg, een lagere concentratie oestradiol had in de kritieke fases van de cyclus. Volgens Reijnders (1980) zou de lagere concentratie in de kritieke fasen het verschil in reproductiesucces tussen beide groepen zeehonden kunnen verklaren. Het innestelen van het eitje lijkt namelijk niet zozeer afhankelijk te zijn van het gehalte aan oestradiol als zodanig dan wel van de snelheid waarmee de concentratie oestradiol op peil komt. Wordt die dan vertraagd, bijvoorbeeld als gevolg van de anti-oestrogene werking van PCB's dan is de baarmoederwand niet tijdig 'gereed'. Er vindt geen of onvolledige innesteling plaats en zwangerschap blijft uit. Naast het effect op de reproductie bleek ook het geboortegewicht van de jongen van de dieren uit de 'Waddenzeegroep' beduidend lager (Reijnders, 1980). Hij suggereerde een significant reproductieremming bij PCB-concentraties van gemiddeld 27,4 ppm (versgewicht) variërende tussen 3,3-72,3 ppm.

Brouwer *et al*. (1989) onderzochten het effect van vis die PCB's toegediend kreeg, op het plasma retinol (vitamine A) en de thyroïdhormoon concentraties, beide gevoelige indicatoren voor PCB-intoxicatie, op zeehonden. Ze zagen dat zeehonden gevoed met vis afkomstig van de Waddenzee en in hoge mate PCB-gecontamineerd significant lagere concentraties aan plasma retinol, vrij thyroxine

en triiodothyronine vertoonden in vergelijking met zeehonden gevoed met vis afkomstig van de Noordoost Atlantische Oceaan die laag PCB-gecontamineerd is. De gemiddelde dagelijkse opname werd geschat op 1,5 mg PCB's en 0,4 mg *pp*'-DDE bij het hoog gecontamineerde dieet en 0,22 mg PCB's en 0,13 mg *pp'*-DDE bij het laag gecontamineerde dieet. De PCB-geïnduceerde daling van de plasma retinolwaarden verdween wanneer de zeehonden met een Waddenzee dieet, gevoed werden met vis uit de Atlantische Oceaan. Deze resultaten zouden er een mogelijke verklaring voor kunnen zijn dat gereduceerde plasma retinol en thyroïdhormoon waarden die kunnen resulteren in een toegenomen gevoeligheid voor microbiële infecties, voortplantingsstoornissen en andere pathologische veranderingen, in belangrijke mate betrokken zijn bij de recent gerapporteerde voortplantingsstoornissen en dodelijke virale infecties bij zeehonden en andere mariene zoogdierpopulaties uit de Baltische zee, de Noordzee en de Waddenzee.
Vandenbergh *et al*. (2002) zagen een dalende zeehondenpopulatie in de Waddenzee, een verstoorde reproductie bij visdiefje (*Sterna hirundo*) aan het Terneuzen sluizencomplex, een vervrouwelijking van bot in het IJsselmeer, de Euromonding en het Noordzeekanaal, effecten op purperslak en wulp in de Noordzee en de Oosterschelde en vervrouwelijking van vissen in Vlaanderen.

Van den Berg *et al*. (1987) onderzochten in de periode 1980-1982 de levers van visetende vogelsoorten (aalscholvers (*Phalacrocorax carbo*), reigers (*Ardea cinerea*) en futen (*Podiceps crisatus*)) op de aanwezigheid van polygechloreerde dibenzo-*p*-dioxinen en dibenzofuranen. De resultaten toonden aan dat vogels dezelfde congeneren bevatte als het leverweefsel van het palingweefsel (2,3,4,7,8-pentachloordibenzofuraan en 1,2,3,6,7,8-hexachloordibenzo-*p*-dioxine in een 1 tot 5 ng kg^{-1} range). Omdat paling een voedselgroep is van de aalscholver kan dit wijzen op een zeer sterke doorgave van deze congeneren naar de lever van de aalscholver.

Murk *et al*. (1994b) onderzochten de concentratie van dioxineachtige componenten in het voedsel van twee toppredatoren, het visdiefje en de zeehond en vergeleken deze met de "No Observed Effect Concentration (NOECs) in hun dieet en in het sediment van hun habitat. Er werden geen effecten op biochemische parameters aangetroffen bij de kuikens van het visdiefje bij concentraties van 15 pg TEQ PCDD's + PCFD's + PCB's g^{-1} versgewicht aan dieet, terwijl er wel effecten werden aangetroffen bij concentraties van 46 pg TEQ PCDD's + PCFD's + PCB's g^{-1} versgewicht aan dieet. De NOEC-waarde voor het dieet van de zeehond werd door Leonards *et al*. (2005) vastgelegd op 7,8 pg TEQ g^{-1} versgewicht.

Otters zijn semi-aquatisch (ze spenderen een groot deel van hun leven in het water) en voeden zich grotendeels met organismen uit het water zodat ze gemakkelijk bedreigd worden door een slechte waterkwaliteit. Doordat ze ook nog eens aan de top van de voedselketen staan, kunnen ze gedurende hun leven een grote hoeveelheid PCB's stockeren. Onderzoek heeft uitgewezen dat het eten van met PCB-gecontamineerde vissen zorgt voor een lager geboortecijfer en een lagere overleving van het aantal jongen per nest. Daarnaast leven otters niet lang in gebieden die met PCB's gecontamineerd zijn (www.dec.state.ny.us/website/dfwmr/habitat/hrotterssp/Otterpollution.htm).
Zoals de paling zijn ook de otterpopulaties danig afgenomen in veel West-Europese landen (Mason, 1989). Verschillende auteurs wijten deze afname aan de accumulatie van chloorbifenylen (PCB's) (Mason, 1989; Broekhuizen 1989; Olsson & Sandegren, 1991). Voorbeelden hiervan zijn de afgenomen otterpopulaties in Engeland (Chanin & Jefferies, 1978), in Zweden (Sandegren *et al*., 1980; Erlinge, 1980, Olsson & Sandegren, 1983), in Georgië (Halbrook *et al*., 1981) en de nerts en otterpopulaties in Oregon (Henney *et al*., 1981). De bedreigde populaties bezaten immers een hogere PCB-concentratie dan de goed gedijende populaties (Smit *et al*., 1994). Laboratoriumonderzoek heeft uitgewezen dat niet ortho-gesubstitueerde PCB-congeneren verantwoordelijk zijn voor de nadelige ge-

zondheidseffecten bij otters zoals een mislukte reproductie (Ministerie van Landbouw en Visserij, 1989; Kihlström *et al*., 1992). De gemiddelde concentratie aan PCB's bij de laatste vijf verkeersslachtoffers (1981-1988) in Nederland was 80 mg PCB kg^{-1} (vetgewicht) (Broekhuizen, 1989). Bij de nerts, een aan de otter gerelateerde diersoort, werd een waarde van 50 mg PCB kg^{-1} (vetgewicht) gerelateerd aan een daling van 50% in de reproductie (Jensen *et al*., 1977).
Safe (1984) rapporteert dat otters zeer gevoelig zijn voor de acute toxische effecten van PCB's en PBB's: toediening van 30 ppm van een mengsel van Aroclors 1242, 1245 en 1254 (1:1:1) resulteerde binnen de zes maanden in 100% mortaliteit; een dieet van 3,6 ppm Aroclor 1254 gedurende 105 dagen resulteerde eveneens in 100% mortaliteit bij een andere groep otters. Heath *et al*. (1972) toonden voor verschillende vogelsoorten aan dat de LC_{50} waarden voor Aroclors 1232, 1242, 1248, 1254, 1260 en 1260 liggen bij een overschrijding van 600 mg kg^{-1} (totale opname via het voedsel).
Wren (1991) rapporteerde een verband tussen de mislukte reproductie bij nerts en de organochloor verhoudingen van de (gegeten) vis. Nertsen vertoonden een onderdrukte groei wanneer ze gevoed werden met een dieet dat 10 µg g^{-1} PCB's alleen of in combinatie met organochloor pesticiden. Een overzicht van de chemische effecten op nertsen en fretten onder laboratorium omstandigheden is terug te vinden bij Wren (1991). Gutleb (2000) vermeldt volgende ziekten bij otters vervuild met di-ortho-gesubstitueerde PCB's: tumoren in de ingewanden, hepatitis, galstenen, vergrote lever (10% van het lichaamsgewicht), navelstreng hernia en vervormde uterus. Hetzelfde onderzoek suggereert dat het aantal ziekten toeneemt met een stijgende concentratie aan PCB's die veroorzaakt kunnen worden door immunosuppressie bij de otter (Tabel 4.3). De indeling in de drie groepen is gebaseerd op de vervuiling van otters met non- (groep 1), mono- (groep 2), of ortho-gesubstitueerde (groep 3) PCB's.

Tabel 4.3: Voor elke TEQ-groep (ng.g^{-1} vetgewicht) werd het aantal otters met een ziekte (virale infectie, bacteriële ziekte, pathologische afwijkingen en/of endoparasieten), aantal ziekten per zieke otter, percentage otters met een ziekte, conditie index (CI), somatische index van de lever (LSI) en gemiddeld verschil (%) tussen de conditie index en de somatische index van de lever vergeleken met gezonde otters (Gutleb, 2000).

	TEQ groep 1	TEQ groep 2	TEQ groep 3
TEQ-concentratie (ng.g^{-1} vetgewicht)	0-4	4-8	8-26
aantal otters in de groep	24	7	12
aantal otters met ziekte	4	2	4
aantal ziekten per zieke otter	1	1,5	2,25
% ziekten	17	29	33
CI (gemiddelde ± SD)	1,17 ± 0,14	1,22 ± 0,15	1,01* ± 0,19
Verschil in CI vergeleken met gezonde otters	+ 1%	+ 5%	- 13%
LSI (gemiddelde ± SD)	0,037 ± 0,011	0,034 ± 0,011	0,052 ± 0,029
Verschil in LSI vergeleken met gezonde otters	+ 3%	- 6%	+ 44%

CI = conditie index
LSI = somatische index van de lever (verhouding tussen gewicht van de lever en het lichaamsgewicht)
* = gemiddelde CI van groep 3 is significant lager dan van groep 1 of 2.

De resultaten laten zien dat de gemiddelde conditie index voor de otters uit groep 3 significant lager ($p < 0,05$) is dan van de otters uit groep 1 en 2. Dit wijst op lagere relatieve lichaamsgewichten in deze groep: 13% minder lichaamsgewicht dan voor gezonde otters. Experimentele studies met nerts hebben aangetoond dat bij blootstelling aan hoge PCB-waarden de dieren minder aten dan in de controlegroep.

De resultaten van Murk *et al*. (1998) suggereren dat otters gevoelig zijn voor stoffen die ageren via de AhR. In combinatie met de selectieve accumulatie van de meest toxische planaire PAK’s (Leonards *et al*., 1997) zijn de huidige concentraties in het milieu voldoende hoog om retinoïde depletie (ontlasten van lichaamsvloeistof) te veroorzaken. Hoewel de dagelijkse opname van vitamine A de leverwaarden kan beïnvloeden, zijn de veranderingen in vitamine A homeostase ook geassocieerd met blootstelling aan PAK. Dit werd onderzocht in experimentele set-ups waar de voedselkwaliteit constant gehouden werd voor duiven (Spear *et al*., 1989), zeehonden (Brouwer *et al*., 1989), eidereenden (Murk *et al*., 1994*b*) en nerts (Brunström *et al*., 1991). De toegenomen verhouding retinol retinylpalmitaat met inwendige blootstelling bij wilde otters suggereert dat hun opslagcapaciteit of mobilisatie van retinoïden op een dosis-gerelateerde wijze verstoord is. In de studie die door Brunström *et al*. in 1991 werd beschreven, was de vitamine A waarde van de lever met 48% afgenomen bij volwassen nertsvrouwtjes die gevoed werden met 2 mg Clophen A50 gedurende 12-14 weken. De vitamine A waarde werd na een volledige hydrolyse bepaald zodat er geen verwarring mogelijk is tussen retinylesters en retinol. Een belangrijk verschil met wilde otters is dat de nertsen gevoed werden met vitamine A supplementen die gedeeltelijk de nadelige effecten van PCB’s op de vitamine A homeostase compenseren. Desalniettemin waren in de longen van deze dieren de vitamine A waarden gereduceerd tot 67%. Dit wijst erop dat de vitamine A waarden reeds gereduceerd konden zijn voordat de lever, het belangrijkste opslagorgaan voor vitamine A is uitgeput (Gutleb & Murk, 2000).

Leonards *et al*. (1994) en Smit *et al*. (1996) gebruikten volgende waarden voor de evaluatie van potentiële toxicologische responsen van nerts en otter in de Hudson rivier.

(1) < 9 µg totale PCB’s g^{-1} vet wordt beschouwd als een veilige waarde voor nerts en otter en is gebaseerd op de EC1 voor lichaamsvrachten in Europese otter die de lever retinolwaarde (vitamine A) beïnvloeden.

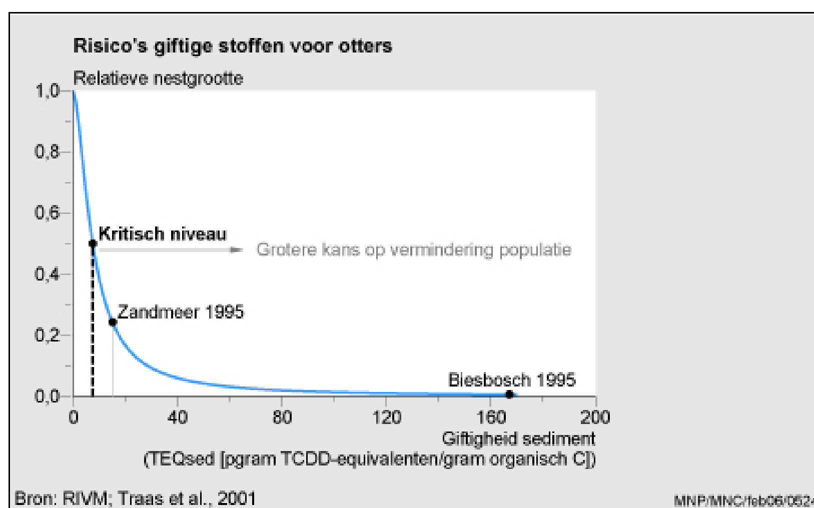
(2) ≥ 21 µg totale PCB’s g^{-1} vet wordt beschouwd als een kritische waarde voor beschadiging van de gezondheid bij nerts en otter en is gebaseerd op de EC90 voor lichaamsvrachten in Europese otter die de lever retinolwaarde (vitamine A) beïnvloeden.

(3) ≥ 50 µg totale PCB’s g^{-1} vet wordt beschouwd als een kritische waarde voor beschadiging van de reproductie bij nerts en otter en is gebaseerd op de EC50 voor de reproductie van het aantal jongen bij nerts. De grenzen van de kritische waarden voor reproductie, uitgedrukt in aantal jongen per nest en afname van de overleving van de jongen, variëren tussen 40 en 60 en 79 en 118 µg totale PCB’s g^{-1} vet respectievelijk, gebaseerd op een weefsel met 2 tot 3% vet.

Traas *et al*. (2001) stelden een risk assessment model op voor PCB-specifieke congeneer bioaccumulatie van sediment naar vis naar zeehond in Nederland. De bioaccumulatie van PCB’s in het Zandmeer toonde aan dat de TEQ-waarden van een doorsnee dieet een grootteorde één hoger liggen dan voor het sediment en nog één grootteorde stijgen bij de biomagnificatie van vis naar wijfjes otters. De geobserveerde biomagnificatie van vis naar otter is voor de mannetjes groter dan voor de wijfjes. Dat is te wijten aan het PCB-verlies dat de wijfjes hebben gedurende de lactatie. Ook werd een positieve correlatie aangetoond tussen leeftijd en PCB-concentraties voor mannelijke otters. De effecten van vitamine A depletie op jonge mannelijke otters lijkt dan ook zwaarder omwille van de hogere bioaccumulatie en men schat dat het ongeveer 15 jaar zal duren voor de dieren hiervan hersteld zullen zijn. In Figuur 4.5 is de 'giftigheid van het sediment', uitgedrukt als het toxisch equivalent van PCB, uitgezet tegen de gemodelleerde habitatgeschiktheid[1] uitgedrukt als 'relatieve nestgrootte'. Beneden een rela-

[1] Als 'habitatgeschiktheid' is de relatieve nestgrootte gekozen. Dat is het gemiddelde aantal jongen dat een ottervrouwtje in een bepaalde periode bij een gegeven TEQ zou krijgen, vergeleken met het aantal jongen dat een ottervrouwtje gekregen zou

tieve nestgrootte van 0,5 wordt de populatie kleiner en is uiteindelijk niet levensvatbaar. Van de relatieve nestgrootte kan een 'kritisch niveau' voor PCB's in sedimenten worden afgeleid. Het TEQ_{sed} in de Rijn- en Maasstroomgebieden zal tussen Zandmeer en Biesbosch in liggen. Ondanks grote onzekerheden concluderen Traas *et al*. (2001) dat in de 'schonere' meren zoals het Zandmeer het nog ongeveer 15 jaar zal duren voordat het sediment die kwaliteit bezit om een otterpopulatie een duurzaam leven te kunnen garanderen. In de Biesbosch zal dat 25-80 jaar kunnen zijn. Het voortbestaan van een gezonde populatie otters in Nederland staat onder druk van de giftigheid van het sediment.



Figuur 4.5: De 'giftigheid van het sediment', uitgedrukt als het toxisch equivalent van PCB's, uitgezet tegen de gemodelleerde habitatgeschiktheid, uitgedrukt als 'relatieve nestgrootte' (Traas *et al*., 2001).

Fisk *et al*. (2005) schreven een recensie over de toxicologische effecten van antropogene contaminanten in de Canadese Arctische fauna. Zij gaven hierin een tabel weer met de drempelwaarden voor de biologische effecten voor ΣPCB, ΣDDT en de TEQ-waarden voor dioxineachtige chemicaliën voor vissen, zeevogels en mariene zoogdieren (Tabel 4.4).

Tabel 4.4: Drempelwaarden voor de biologische effecten van ΣPCB, ΣDDT en de TEQ-waarden voor dioxineachtige chemicaliën voor vissen, zeevogels en mariene zoogdieren (Fisk *et al*., 2005).

	NOEL	Effect	Referentie
Vissen			
ΣPCB	1000 $ng.g^{-1}$ bw in de lever	EROD-inductie bij Arctische zalmforel	Jørgensen *et al*., 1999
Zeevogels			
ΣPCB	2300 $ng.g^{-1}$ bw in eitjes	broedsucces bij de Forsters stern	Bosveld & van den Berg, 1994
	3500 $ng.g^{-1}$ bw in eitjes	mortaliteit in de eitjes van de	Giesy *et al*., 1994b

hebben in een 'ongestoorde' omgeving (TEQ =0). De relatieve nestgrootte is geschat aan de hand van experimentele data van de verwante Amerikaanse nerts (Leonards *et al*. 1995; Traas *et al*. 2001). De 'habitatgeschiktheid' (relatieve nestgrootte) is omgerekend naar de fractie levende jongen per vrouwtje ten opzichte van een 'ongestoorde' controle-populatie, waarbij het gemiddelde aantal jongen 1,7 was. Vermeld moet worden dat er geen zekerheid is dat de Amerikaanse nerts even gevoelig voor PCB's is als de otter. Berekeningen waarin gekeken werd naar de verstoring van de vitamine A huishouding van de otter bleken echter bijna hetzelfde beeld te vertonen qua habitatgeschiktheid als worpgrootte/ nestgrootte.

		geoorde aalscholver	Barron *et al*., 1995
ΣDDT	3000 ng.g^{-1} bw	reproductie van de Amerikaanse zeearend	Wiemeyer *et al*., 1984
TEQ	4,6 pg TEQ g^{-1} bw in eitjes	reproductie van aalscholver	Giesy *et al*., 1994b
	20 pg TEQ g^{-1}	reproductieve effecten op Carolina eend	Giesy *et al*., 1994b
	10 pg TEQ g^{-1} bw in eitjes	reproductie van de zilvermeeuw	Giesy *et al*., 1994b
	200 pg TEQ bw^{-1} in eitjes	reproductie van de Amerikaanse zeearend	Elliot *et al*., 1996
	100 pg TEQ g^{-1} bw in eitjes	cytochroom P450 1A inductie bij de Amerikaanse zeearend	Elliot *et al*., 1996
Mariene zoogdieren			
ΣPCB	1000 ng.g^{-1} lw in bloedserum	visueel geheugen bij resusaap	Ahlborg *et al*., 1992
	500-1000 ng.g^{-1} lw in bloedserum	korte termijngeheugen bij resusaap	Ahlborg *et al*., 1992
	4000 ng.g^{-1} lw in de lever	vitamine A reductie bij otters	Murk *et al*., 1998
	11 000 ng.g^{-1} lw in de lever	vitamine A reductie bij otters	Murk *et al*., 1998
TEQ	2000 pg TEQ g^{-1} lw in de lever	vitamine A reductie bij otters	Murk *et al*., 1998
	210 pg TEQ g^{-1} lw in spek	immunosuppressie bij zeehonden	Ross *et al*., 1995

Deze waarden werden voor de tweede AMAP (Artic Monitoring and Assessment Programme) beoordeling van POP's in Arctische biota samengesteld (de Wit *et al*., 2002*).*

EROD: Ethoxyresorufin-O-diëthylase

NOEL: no observable effects level

LOEL: lowest observable effects level

lw: lipid weight (vetgewicht) – bw: body weight (versgewicht)

IV.2. Potentiële effecten van pesticiden op paling

Organochloorverbindingen die als mogelijke endocrien verstoorders worden gedefinieerd zijn o.a. DDT, lindaan en methoxychloor (MXC). Die pesticiden zijn potentieel schadelijk voor vele levende organismen omwille van hun grote affiniteit voor vetweefsels en hun lange persistentie in het milieu. Hun halfwaardetijd bedraagt minstens 20 jaren zowel in het water als in de bodem en sommige bodems houden tot 38% van de oorspronkelijk toegepaste hoeveelheid pesticiden vast (Martijn *et al*., 1993). Bijgevolg is deze groep pesticiden omwille van hun vetoplosbaarheid in staat om te bioaccumuleren in de voedselketen (Clarkson, 1995).
Tegenwoordig worden veel pesticiden verkozen omwille van hun korte remanentie en daarom worden ze verondersteld om onschadelijk te zijn voor macro-organismen, vissen incluis. Een aantal onder hen zijn niet lipofiel, bioaccumuleren niet in de voedselketen en worden snel uitgescheiden via excretie. Vaak bereikt echter slechts 0,3% van de actieve substantie het doel terwijl de overblijvende 99,7% opgelost wordt in het aflopende water en afgevoerd wordt naar het aquatisch systeem waar het uiteindelijk terecht zal komen in aquatische organismen (Van der Werf, 1996). In MIRA (2005b) wordt aangenomen dat bij behandelingen van gewasbeschermingsmiddelen op planten meer dan 80% uiteindelijk niet op de bedoelde plaats zoals het bladoppervlak terecht komt en bijgevolg niet effectief is. Forster (2004) stelde het zo: als de totale gespoten hoeveelheid gelijk gesteld wordt aan 100% is er 80% depositie, daarvan slechts 50% retentie, van deze weerhouden hoeveelheid wordt 50% opgenomen,

en 10% van de opgenomen fractie wordt getransporteerd. Dit betekent dus dat maar 20% opgenomen wordt en niet meer dan 2% in het gewas getransporteerd wordt naar de plaats van actie. De 80% die niet opgenomen wordt gaat verloren en komt op niet-doeloppervlakken of in niet-doelcompartimenten terecht. Daar kan de aanwezigheid nefast zijn en kunnen deze verbindingen schade berokkenen aan de oorspronkelijke habitatten.

IV.2.1. Pesticiden en paling

Het gebruik van morfologische karakteristieken van organen als biomerker is handig voor biomonitoring programma's en wordt gebruikt voor het monitoren van persistente organische polluenten (POP's) in aquatische ecosystemen. Het is reeds aangetoond dat levers nuttig zijn voor het beschrijven en documenteren van de effecten van polluenten (Oliveira Ribeiro *et al.*, 2002; Bondy *et al*., 2003; Damek-Proprawa & Sawicka-Kapusta, 2003; Padros *et al.*, 2003; Akaishi *et al.*, 2004; Brown & Steinert, 2004). Recent toonden Dutta & Meijer (2003), Marty *et al.* (2003), Akaishi *et al.* (2004) en Brown & Steinert (2004) microscopische letsels aan in kieuwen, levers en milt bij o.a. *Lepomis macrochirus*, tropische zoetwater vissen van het species *Astyanax* en bij platvissen. Omdat kieuwen in contact staan met water en blootgesteld worden aan opgeloste contaminanten, duidt het samensmelten van lamellen en het voorkomen van aneurysmen (slagaderbreuk) op een acute blootstelling aan polluenten, terwijl het voorkomen van parasieten in kieuwen wijst op een aangetast immuunsysteem.
Pesticiden (Azzalis *et al.*, 1995) en PAK (Ibuki & Goto, 2002) worden gerelateerd aan een toegenomen concentratie van vrije radicalen in het cytosol. Deze oxidatieve vormen kunnen geprogrammeerde celsterfte doen toenemen of de homeostase van cellen verstoren en cellulaire necrose veroorzaken. Zo wijst de aanwezigheid van prenecrotisch weefsel op de aanwezigheid van necrosis (afsterven van het weefsel) terwijl de invasie van rode bloedcellen in het weefsel wijst op celschade. Apoptosis (celdood) wordt veroorzaakt door een complex mechanisme waarbij biochemische mechanismen verantwoordelijk zijn voor de activatie van de sleutelevenementen (Oliveira Ribeiro *et al*., 2005).

Er werden reeds een aantal onderzoeken uitgevoerd naar de invloed van de toxische effecten van pesticiden op paling. Hieronder worden er een aantal aangehaald. Ceron *et al.* (1996) onderzochten de effecten van diazinon op de cholinesterase activiteit in verschillende palingweefsels (hersenen, plasma en oogweefsel) die aan een subletale dosis van 0,042 mg l^{-1} (0,50% van het 96h LC50) blootgesteld werden. Oogweefsel was het enige weefsel dat hogere waarden van ChE-activiteit (8,17 micromol min^{-1} g^{-1}) vertoonde in niet blootgestelde palingen.
Fernandez-Vega *et al.* (1999) onderzochten de toxiciteit van het herbicide thiobencarb (S-4-chloorbenzyldiethylthiocarbamaat) bij paling. De palingen werden blootgesteld aan een subletale thiobencarb-concentratie (1/60 LC50-96h = 0,22 mg l^{-1}). Uit de resultaten kwam naar voren dat thiobencarb een significant remmende werking heeft op de plasma AChE-activiteit vanaf het eerste contactmoment met het vergif. Deze remming (minder dan 50% activiteit) werd gedurende de hele blootstellingperiode (96h) behouden en zelfs de palingen die overgebracht werden naar proper water vertoonden een plasma AChE-activiteit die verschillend was van die in de controlegroep.
Gedwongen en continue spieractiviteit leidt tot trillen (Hughes *et al.*, 1997) en deze inspanning leidt op zijn beurt tot een snelle vetmobilisatie. Sancho *et al.* (1998) zagen dat palingen die blootgesteld werden aan fenitrothion (een organofosfor insecticide; 0,02 en 0,04 mg l^{-1}) significant lagere vetreserves hebben dan voor de blootstelling. Calow (1991) schat dat de energiekosten ten gevolge van chemische stress zowel korte als lange termijn consequenties hebben op de groei en de reproductie. Deze pesticiden verstoren de synthese van vetten en zo de migratie efficiëntie en het broedproces van Europese en Amerikaanse palingen.

Drie pesticiden kunnen neoplasis (nieuw gevormd weefsel, ev. gezwel) veroorzaken: chlordaan (NCI, 1977), heptachloor (Akay & Alp, 1981) en lindaan (Wolff *et al.,* 1987). Daarnaast kunnen ook andere zware metalen en PAK beschouwd worden al potentiële carcinogene agenten (Bal & Kasparzak, 2002; Shailaja & D'Silva, 2003). PAK induceert de vorming van mixed function oxygenase (MFO) in vissenlever met neveneffecten die veroorzaakt worden door de vorming van hoog carcinogene overgangsproducten (Shailaja & D'Silva, 2003). Tumoren die aangetroffen worden in levers en milten van paling zijn het resultaat van langdurige blootstelling aan een combinatie van potentieel carcinogene polluenten (Roche *et al.*, 2002).

Verschillende studies vermelden dat BaP (benzo[a]pyrene; Wolkers *et al*., 1996; Pacheco & Santos, 1997), DHAA (dihydroabiëtisch zuur) en BKPME (bleached kraft pulp mill effluent) (Martel *et al*., 1994; Pacheco & Santos, 1999) EROD-inductoren[2] zijn. Pacheco & Santons (2002) onderzochten de biotransformatie respons van paling op de toxiciteit van bovengenoemde stoffen. Zij bekwamen een onverwacht resultaat omdat noch BaP (0,22; 0,45 en 0,9 µM) noch BKPME (3,12; 6,25; 12,5%) een totale EROD-inductie teweegbracht. De respons op een kortere termijn blootstelling aan DHAA (0,07; 0,15; 0,3 µM) kwam ook niet overeen met eerder bekomen resultaten, ondanks de duidelijke EROD-inductie die vis vertoonde na 180 dagen blootstelling aan DHAA. De discrepantie in de resultaten wordt geweten aan de verschillen tussen de visloten of aan de ongevoeligheid van de EROD-methodologie voor metingen op het hele lichaam. Pacheco & Santos (2002) ontdekten ook dat met DHAA behandelde vis na 30 dagen exfoliatie (afschilfering) van de epidermis vertoont waarschijnlijk ten gevolge van het bijtende effect van de harszuren. Eerdere studies (Bushell *et al*., 1985; Toivola & Isomaa, 1991) wijzen erop dat ook detergensinwerkingen en de daaruit resulterende celdefecten die een rechtstreekse invloed hebben op het palinglichaam, in beschouwing genomen moeten worden. Harszuren zijn een belangrijke component van de 'pulp mill effluents' (BKPME) waardoor DHAA mede verantwoordelijk is voor dezelfde histologische veranderingen die aangetroffen worden bij met BKPME behandelde vis. Zo rapporteerden Santos *et al.* (1990) huidbeschadigingen bij adulte paling ten gevolge van BKPME. Howard *et al*. (1971) en Mc Leay (1973) rapporteerden een afgenomen dikte van het huidepitheel bij cohozalm. Howard *et al*. (1971) rapporteerde eveneens een gunstige adaptatie van vis ten gevolge van blootstelling aan BKPME. Het ontbreken van parasieten of beschadigingen ten gevolge van parasieten op de huid van met DHAA behandelde vissen wijst erop dat het bovengenoemde bijtende effect van DHAA er ook voor zorgt dat parasieten zich niet kunnen vastzetten en dat zo infectie verhinderd wordt (Pacheco & Santos, 2002). Verder veroorzaakt DHAA structurele veranderingen in de kieuwen (Tuurala & Soivio, 1982; Pacheco & Santos, 2002). Deze histopathologische veranderingen hebben een belangrijke invloed op de gezondheid van de vis omdat ze de zuurstofdiffusie door de kieuwen verhinderen en beschadiging van de osmoregulatorische functie veroorzaken. Hemosiderose (ijzeropslag) in de milt wijst op erytrocyten katabolisme wat op zijn beurt kan leiden tot een daling in het aantal rijpe erytrocyten in de bloedcirculatie (Hibiya, 1982). Verder werden ook letsels in het nierweefselkluwen ontdekt die infiltratie in de glomerulus kunnen verhinderen. Histologische veranderingen in de nierbuisjes van aan BKPME blootgestelde paling werden eerder al ontdekt door Santos *et al*. (1990).
Met BaP behandelde vissen vertonen cholestasis (verstoring of verstopping van de galafvoer) (Pacheco & Santos, 2002).

[2] *EROD of ethoxyresorufine-O-deëthylase*: wordt gebruikt om de activiteit van het ontgiftingssyteem van de lever te bestuderen. De aanwezigheid van stoffen zoals PCB's en PAK's verhogen deze activiteit. Dit wordt 'inductie' genoemd.

POP-contaminatie kan leiden tot glycogeendepletie[3] wat een gevolg is van vasten en een afname in de gluconeogenese veroorzaakt door veranderde glucogenetische enzymactiviteiten (Viluksela *et al.*, 1999). Glycogeen, vetdepletie en extreme structuurveranderingen in darm en lever komen bij een lage dosis aan endosulfaan voor bij karper (Braunbeck & Appelbaum, 1999). In tegenstelling hiermee kunnen chronisch geëxposeerde organismen fysiologische tolerantie ontwikkelen tegenover polluenten waarbij ze geen respons meer vertonen op die polluenten (Thomas *et al.*, 1999).

Sancho *et al*. (1997) deed onderzoek naar de subletale effecten van een organofosfaat pesticide, fenitrothion (*O,O*-dimethyl-*O*-3-methyl-4-nitrofenyl fosforothioaat). Ze zagen dat een constante subletale concentratie van 0,02 mg l^{-1} in het water gedurende 96h, fysiologische stress veroorzaakt bij paling. Er werd een voortdurende hyperglykemie[4] aangetroffen. Anderzijds was er een spectaculaire stijging in de bloed-, lever- en kieuwlactaatwaarden terwijl de proteïnen significant afnamen. Lactaat wordt wereldwijd gebruikt als een maat voor het anaërobisch metabolisme en een stijging hiervan is een snelle en duidelijke respons op het voorkomen van energiedepletie ten gevolge van een zuurstoftekort (Van den Thillart, 1982). Pesticiden staan bekend om hun mogelijkheid om de structurele integriteit van kieuwen te verstoren (Kumaragura *et al*., 1982; Virtanen, 1986; Evans, 1987). Het mag aangenomen worden dat ten gevolge van de gereduceerde efficiëntie van de beschadigde kieuwen als respiratorisch orgaan, de weefsels minder zuurstof krijgen. De ontwikkelingen van zulke interne hypotoxische condities kan uiteindelijk verantwoordelijk zijn voor het overschakelen naar minder efficiente anaërobe metabolismen die waarneembaar zijn door de veranderingen in melkzuurconcentraties in het bloed-, lever- en kieuwweefsel. Deze resultaten komen overeen met die van Ferrando & Andreu (1991a) en Gimeno *et al*. (1994) die de blootstelling van *A. anguilla* aan pesticiden onderzochten. Ferrando & Andreu (1991b) bestudeerden de effecten van lindaanblootstelling (96h) op *A. anguilla* en zagen een afname van de lever en het spierglycogeen en een toename van glucosewaarden in het bloed.
Sancho *et al*. (1997) zag dat de met fenitrothion behandelde palingen na vijf dagen blootstelling geen significante veranderingen in lever glycogeenwaarden vertoonden maar dat de proteïneconcentraties wel significant daalden. Holmberg *et al*. (1972) vond gelijkaardige resultaten bij paling die gedurende 8 dagen blootgesteld was aan PCP (pentachloorfenol). Hij vond ook een significante toename van de hepatosomatische index. Deze toename werd verklaard door een vergroting van de lever tengevolge van de pesticide blootstelling. In deze studie (Sancho *et al*., 1997) werd ook hepatomegalie (leververgroting) aangetroffen zoals ook in andere studies naar blootstelling aan chemische stressoren gerapporteerd wordt (Couch, 1975). De afname van de proteïnegehalten bij met fenitrothion geïntoxificeerde palingen wijst ook op de fysiologische adaptatie van vissen voor het compenseren van stress veroorzaakt door pesticiden. Het hoofd bieden aan deze stress vraagt veel energie van de dieren. Het kan zijn dat deze energievraag geleid heeft tot de stimulatie van het proteïnekatabolisme. Wanneer vis kan herstellen in zuiver water, kunnen deze stoornissen in minder dan een week (192h) verdwijnen (Sancho *et al*., 1997).

[3] Bij langdurige belastingen worden allereerst de intramusculaire glycogeenreserves verbruikt en bij voortdurende uitputtende belasting ook de reserves in de lever. Een volledige glycogeen-depletie van de direct bij de inspanning betrokken spieren komt pas voor bij belastingen die langer dan een uur duren en is verregaand afhankelijk van de oorspronkelijke glycogeenvoorraad in de spieren bij aanvang (van bijvoorbeeld een lange duurloop). Via de training en de overcompensatie daarna zijn de glycogeenvoorraden te vergroten (zie: Koolhydratenstapeling).
[4] Abnormale verhoging van de suikerspiegel.

IV.2.2. Pesticiden en palingpredatoren

Het gebruik van DDT voor huishoudelijke en agrarische doeleinden na WO II in 1945 contamineerde al snel duiven en zangvogels alsook prooivogels zoals de slechtvalk (*Falco peregrinus*), sperwer (*Accipiter nisus*) en smelleken (*Falco columbarius*). Het eerste merkbare subletale effect was het dunner worden en daarna breken van de eischalen bij de drie laatstgenoemde vogelsoorten in 1946 (Ratcliff, 1970, 1993; Newton, 1973, 1986; Newton *et al*., 1982). Deze effecten waren ook zichtbaar bij zeevogels zoals jan-van-genten (*Sula bassana*) ten gevolge van organochloor pollutie van zeevissen (Parslow & Jefferies, 1977). Wanneer de veel toxischere cyclodiëne organochloor insecticiden, dieldrin en aldrin op de markt kwamen als zaadmest in 1956, werd dit gevolgd door grote sterftes bij zaadetende vogels en dit vooral in het Oosten. Dieldrin heeft een 6 tot 14 keer grotere chronische letale toxiciteit dan DDT (DeWitt *et al*., 1960). Dieldrin kwam ook in het water terecht en zorgde ervoor dat ook vissen en paling zwaar gecontamineerd werden. Ten gevolge daarvan werden ijsvogels (*Alcedo atthis*) en reigers dood aangetroffen met hoge dieldrinconcentraties in hun lichaam (Prestt, 1970; Cooke *et al*., 1982; Haas & Cooke, 1983).

Blus (1996, Fide: Mora & Wainwright, 1998) vermeldt dat DDT-concentraties variërende tussen < 1 tot 28 µg g^{-1} versgewicht in hersenen van vogels dodelijk zijn en dat DDE-residu's in vogeleieren variërende van 0,1 tot > 60 µg g^{-1} versgewicht de eischaal verdunnen. Er treden echter geen significante afnames op in de productiviteit tot de eischaal 15-20% verdund is. Blus (1996) zegt ook dat de bruine pelikaan de meest gevoelige soort is voor eischaalverdunningseffecten van DDE en dat 3 µg g^{-1} versgewicht in de eitjes volstaat om hun productiviteit te doen afnemen.

Jefferies & Hanson (2000) rapporteren dat blindheid één van de gevolgen is van vitamine A deficiëntie die veroorzaakt wordt door de aanwezigheid van pesticiden en andere verontreinigende stoffen in otters. Ook hypothyreoïdie (onvoldoende werking van de schildklier) wordt veroorzaakt door organochloriden en PCB's en omdat er een relatie bestaat tussen de thyroïdactiviteit en het vitamine A metabolisme treedt er ook een secundair effect van vitamine A op (Jefferies, 1975). Xerose (uitdroging) van het epitheel en het serieuzere xeroftalmia (uitdroging van de slijmvliezen en het bindweefsel) en hyperkeratosis (overmatige verhoorning van de huid) die de cornea beïnvloeden, zijn algemeen voorkomend bij dieren met een vitamine A deficiëntie (Jefferies & Hanson, 2000).

Jefferies & Hanson (2000) beschrijven de ineenstorting van de otterpopulatie in Engeland, Wales en het zuiden van Schotland in 1957, 18 maanden na de invoering van de hoog toxische cyclodiëne organochloor insecticides aldrin, dieldrin en heptachloor. Het verval en herstel vertoonde veel correlaties met de landbouwpraktijken in de omgeving. De achteruitgang van de otter begon op het moment dat er ook veel slachtoffers vielen bij zaadetende vogels in Zuid- en Oost-Engeland. Tegelijkertijd stortten twee prederende vogelpopulaties in, nl. sperwer en valk, ten gevolge van het gebruik van dieldrin. In Engeland werd het grootste effect op de otterpopulaties gezien in de zuidelijke en oostelijke landbouwgbieden die tevens de grootste met organochloor insecticiden behandelde oppervlaktes hebben. Onderzoek naar het jachtsucces van de otter toonde aan dat in 1956, vóór het gebruik van dieldrin, er geen significante correlatie bestond tussen het succes van de otterjacht en het aantal landbouwgronden in een gebied. Na 1956 echter was er een significant omgekeerd verband tussen beide: als het landbouwgebruik toenam (en dus ook het gebruik van dieldrin) dan nam het jachtsucces af. Bij het eerste verbod in 1962 op het gebruik van sommige dieldrinproducten in zaadmest was er een plotse verandering in de snelheid van de otterafname. Het begin van het herstel in de oostelijke en westelijke populaties komt overeen met het invoeren van het verbod op het gebruik van organochloriden.
Jefferies & Hanson (2000) wijzen ook op een significant lineair verband tussen de intensiteit van het landbouwgebruik in een gebied (en dus ook het gebruik van dieldrin) en het moment van het diepte-

punt in de vervalcurve van de otter voor dat gebied. Dat dieptepunt treedt het vroegst op waar het landbouwgebruik het laagst is, zodat het herstel vroeger optreedt in het westen dan in het oosten. De otterpopulatie vertoont dus een vooruitgang van het westen naar het oosten zoals ook het geval is voor de twee bovengenoemde vogelpopulaties. In het noorden en het westen van Groot-Britannië is de achteruitgang van de otterpopulatie gerelateerd aan de schapendensiteit daar die het gebruik van dieldrin reflecteert (werd gebruikt voor het kleuren van de schapen). In tegenstelling tot de andere polluenten (DDT, DDE, PCB) die geanalyseerd werden, waren de concentraties aan dieldrin in het otterweefsel veel hoger op het moment van het verval (1957). En hun afname in het otterweefsel komt overeen met het herstel van de populatie. De hoogste dieldrinconcentraties werden in Engelse otters aangetroffen waar de achteruitgang het grootst was en de laagste concentraties in Schotse otters waar de achteruitgang niet zo groot was. De belangrijkste acties die ondernomen werden om de achteruitgang van de otter te stoppen en om te keren was in de eerste plaats een verbod op het gebruik van organochloor insecticiden en ten tweede het voorzien van een wettelijke bescherming om een snel herstel van de populatie te bekomen (Jefferies & Hanson, 2000).

Weseloh *et al*. (1989) verzamelden in 1981 tien eieren van visdiefjes uit verschillende nesten van elk van de vier nestende kolonies in de drie Grote Meren. De gemiddelde dikte van de eierschalen was 0,20; 0,19; 0,19 en 0,21 mm op de vier plaatsen. Er werden geen signicante correlaties gevonden met PCB en DDE. Nisbet & Reynolds (1984) melden dat de DDE-concentraties in vijf eieren in Massachusetts in 1975 die niet uitkwamen varieerden van 1,8 tot 4,6 $mg.g^{-1}$ versgewicht. Deze concentraties vallen samen met deze die gerapporteerd werden bij een afgenomen broed. Sinds 1971 bedragen de DDE-waarden in visdiefjes in Massachusetts gemiddeld <3 $mg.g^{-1}$ en zijn geassocieerd met 93-97% van het broedsucces. De effecten van DDE op visdiefeieren in de bestudeerde periode werden als ondergeschikt verklaard aangezien de concentraties bleven afnemen sinds de afname van DDT in 1960. Burger *et al*. (1995) meldden dat de dikte van de eierschaal in staalnamen van de New York Bight met 3,4% toenamen van 1970-1980 en met 44% van 1980 tot 1990. In 1972 bleken de eierschalen van visdiefjes verzameld uit Buffalo Lake in Alberta (Canada) 3,8% dunner dan de schalen van eieren die voor 1976 verzameld werden (Fox, 1976). In 1980 werd een significant negatieve correlatie gevonden tussen PCB-concentraties en de dikte van de eierschalen die van Rhode Island tot North Carolina gevonden werden (Custer *et al*., 1983). Er werd geen correlatie gevonden tussen DDE en schaaldikte.

IV.3. Potentiële effecten van zware metalen op paling

Zoals eerder gezegd komen zware metalen van nature voor in het milieu onder verschillende vormen: als ionen of gebonden aan stof of moleculen, opgelost in water, als damp in de atmosfeer of als mineralen in gesteenten, bodems. Daarnaast worden ze teruggevonden in het ecosysteem inclusief de mens. Het gevaar van sommige van deze zware metalen schuilt vooral in het feit dat ze kunnen bioaccumuleren. Dat betekent dat hun concentratie in het organisme geleidelijk aan kan toenemen ten opzichte van de concentratie in het milieu, zelfs bij een voortdurende blootstelling aan zeer lage concentraties in de lucht, in drinkwater of de voeding. Dit geldt in sterke mate voor kwik, lood en cadmium, metalen waarvan wordt aangenomen dat ze geen nuttige functie vervullen voor biologische organismen (MIRA-T, 2002).

Verschillende lichte metalen hebben nuttige celfuncties (Baldwin & Marshall, 1999). Ze coördineren de vorming van complexen tussen verschillende moleculen door te binden aan zuurstof- of stikstofato-

men. Zuurstof en stikstof maar ook bijvoorbeeld zwavel maken dikwijls deel uit van liganden: neutrale moleculen of ionen die een vrij elektronenpaar bezitten. Vrije elektronen kunnen gebruikt worden om een binding te vormen met een metaalion. Koper en zink zijn in deze context erg nuttige elementen. Andere lichte metalen zoals aluminium kunnen bij verhoogde concentratie in competitie treden met nuttige metalen en vervolgens de nuttige werking van bepaalde moleculen deactiveren. Sommige metalen die in de tabel van Medeljev onder of boven essentiële elementen staan, hebben sterk gelijkende structurele eigenschappen en kunnen hierdoor verstorend optreden. Zwaardere metalen (atoomgewicht) zijn in de celcylcus van ondergeschikt belang. Dergelijke atomen zijn fysisch groter, raken hierdoor sneller gepolariseerd en vormen stabiele complexen met sulfhydryl liganden. Wanneer dit gebeurt, verliezen de betrokken moleculen (enzymen, proteïnen) hun werking. Bij acute metaalvergiftiging is de toegediende concentratie dermate hoog wat leidt tot breuken in de celmembraan of functiestoringen in de mitochondrieën via het vrijkomen van radicalen. Bepaalde metalen zijn ook toxisch zonder tussen te komen in ligand gebaseerde bindingen en reageren meer specifiek met bepaalde celmoleculen (MIRA-T, 2002).

Het lichaam beschikt over verschillende defensiemechanismen om de schadelijkheid van zware metalen, eens ze in het lichaam terecht komen, uit te schakelen. Een belangrijke rol in de afzondering van metalen is weggelegd voor metallothioneïnes (Baldwin & Marshall, 1999). Metallothioneïnes zijn belangrijke eiwitten die metalen kunnen binden en zo minder biobeschikbaar maken. Het zijn relatief lichte proteïnen die minstens 18 verschillende metalen kunnen binden. Hieraan ontlenen ze hun detoxificerende werking. Metallothioneïnes komen vooral voor in de lever, de nieren, het spijsverteringsstelsel en de pancreas. Wellicht hebben ze een essentiële rol in het metabolisme van zink en koper. Medicinale toediening van zink leidt tot de verhoogde aanmaak van metallothioneïnes in het lichaam wat van zink een middel maakt om bijvoorbeeld een cadmiumvergiftiging te bestrijden (MIRA-T, 2002).

IV.3.1. Zware metalen in paling

A. Lood

Santos & Hall (1990) onderzochten de invloed van anorganisch lood op de biochemische samenstelling van palingbloed. De loodwaarden in het bloed zijn een gevoelige indicator voor de blootstelling aan lood en zijn gerelateerd aan loodtoxiciteit. Voor forel treedt toxiciteit op bij bloed loodwaarden > 300 µg l^{-1} (Hodson *et al*., 1984). Santos & Hall (1990) stelden palingen (gemiddeld gewicht 50 g) gedurende 30 dagen bloot aan anorganische loodconcentraties van 300 µg Pb/l. Een telling van de witte bloedcellen toonde een toegenomen aantal lymfocyten aan bij de aan lood blootgestelde vissen. Het hemoglobine en het aantal rode bloedcellen per kubieke millimeter liet geen verschil zien tussen de controle en de blootgestelde vissen. Biochemische analyses van de bloedsamenstelling zoals glucose, het totaal plasmaproteïne, het totaal plasma cholesterol, natrium en kalium plasma lieten geen verschil zien tussen beide groepen. De plasmalactaatwaarden namen wel toe bij de blootgestelde vissen.

Zimmermann *et al*. (1999) onderzochten het effect van de saliniteit en de toedieningswijze (oraal versus via water) op loodaccumulatie in verschillende weefsels van paling en zijn parasieten *Anguillicola crassus* (Nematoda) en *Paratenuisentis ambiguus* (Acanthocephala). Blootstelling aan lood zowel via water als via het voedsel veroorzaakte een toename in de metaalniveaus van de verschillende palingweefsels en parasieten. De toedieningswijze had een significante invloed op de loodverdeling in de visweefsels terwijl er geen significant verschil gevonden werd bij loodconcentraties te wijten aan de saliniteit. Uit de geanalyseerde weefsels bleek dat de intestinale acanthocephala *P. ambiguus* (haak-

worm) significant de hoogste loodconcentraties bezat, ongeacht de saliniteit of de toedieningswijze. De loodconcentraties bij de nematode *A. crassus* die in de zwemblaas van paling voorkomt, lagen onder de waarden die in de lever, ingewanden en de gal van de gastheer (paling) gevonden werden. Dus zijn afhankelijk van de wijze van de loodtoepassing de resulterende metaalconcentraties 20 tot 2000 keer hoger in *P. ambiguus* dan in *A. crassus*. Deze verschillen kunnen te wijten zijn aan de verschillende microhabitatten en de nutriëntenopname mechanismen van de twee parasietsoorten.

Hodson *et al*. (1984) onderzochten de effecten van blootstelling aan lood op vissen. Ze zagen dat de ALA-D activiteit[5] bij regenboogforel geïnhibeerd werd bij lage loodwaarden in het water (5 µg l^{-1}) en in het bloed (300 µg l^{-1}). De loodwaarden in het bloed en de ALA-D activiteit zijn goede indicatoren voor loodtoxiciteit. Ze reageren snel (≤ 1 week) voor er neurotoxiciteit optreedt (≥ 8 weken). Wanneer de vis opnieuw in zuiver water gezet wordt, dalen de loodwaarden in het bloed en neemt de ALA-D activiteit opnieuw toe en deze processen versnellen bij een stijgende temperatuur. De loodwaarden in het bloed verschillen tussen de vissoorten. Bij identieke blootstellingen aan lood accumuleerde regenboogforel meer lood dan beekforel (*Salmo fario trutta*) wat duidt op een grotere gevoeligheid voor loodtoxiciteit bij de eerste (Hodson *et al*., 1977). Het soorteffect op lood accumulatie zal het verband tussen de ALA-D activiteit en de loodwaarden in het water beïnvloeden – soorten die gemakkelijk loodaccumuleren zullen gevoelige en betere indicatoren zijn voor milieucontaminatie.

B. Kwik

Kwik is een zwaar metaal dat van nature aanwezig is in de meeste bodems in concentraties tot 0,08 mg kg^{-1} en in hogere concentraties in gebieden met vulkanische activiteit. Jaarlijks wordt ongeveer 800 ton vrijgesteld door natuurlijke erosie. Het meeste hiervan wordt gebonden aan partikels afgevoerd naar de oceanen (Gavis & Ferguson, 1972). Menselijke activiteiten, zowel historische als huidige industrie en landbouw hebben gedurende verschillende eeuwen kwik geproduceerd en vrijgesteld in het milieu (Kaiser & Tödl, 1980). Daarenboven hebben menselijke invloeden zoals mijnbouw en zuurdeposities ten gevolge van sulfaatemissies de mobiliteit van het kwik verhoogd wat resulteert in een grote blootstelling van fauna. Kwik is onder de zware metalen uniek omdat het in verschillende fysische en chemische vormen kan voorkomen. Het is vloeibaar bij kamertemperatuur en in het milieu worden twee stadia gevonden, nl. kwik I en kwik II. Beide vormen zijn wateroplosbaar. Daarom zijn ze biobeschikbaar en kunnen ze omgezet worden naar organokwik componenten die meer toxisch zijn dan de anorganische vormen. Elementaire kwik wordt gemakkelijk geëvaporeerd en wordt op deze manier in de atmosfeer getransporteerd. Het komt opnieuw op aarde terecht onder de vorm van neerslag en komt zo in de meren en oceanen terecht. Terwijl deze cyclus vooral het lange afstand transport betreft, is er ook een kleinere cyclus die afhankelijk is van de methylatie van kwik in een organische vorm ten gevolge van biologische activiteit of bacteriën en algen. Dit komt vooral voor onder tropische omstandigheden bij een lage pH en saliniteit die de vorming van dimetylkwik begunstigen. Deze vorm kan zich in vissen en andere aquatische organismen concentreren ten gevolge biomagnificatie en bioaccumulatie (Boening, 2000).

Kwik wordt voornamelijk in zeevruchten en zoetwater vissen aangetroffen en staat bekend als een grote neurotoxische agent. Organische kwik wordt naar de placenta getransporteerd terwijl de anorganische vorm naar de foetus gaat (Kajiwara *et al*., 1996). De gevolgen zijn gedrags- en cognitieve veranderingen die geassocieerd worden met effecten op het centraal zenuwstelsel en veranderingen

[5] ALA-D activiteit: amino levulinic zuur katalyseert de synthese van één molecule porfobilinogeen (PGB) uit twee moleculen ALA. PGB is een precursor van hemoglobine, katalase, verschillende cytochromen en chlorofyl A. ALA-D komt in de meeste aerobe bacteriën, planten en dieren voor.

in de nieren. Door de grote affiniteit tussen kwik en sulfhydrylmoleculen treden er interacties op tussen kwikionen en de thiolgroep van proteïnen, peptiden en aminozuren zoals albuminen, metallothioneïnen[6], glutation en cysteïne. Deze mechanismen zijn allemaal betrokken bij de opname en accumulatie, transport en toxiciteit van de kwikionen in de nieren (Zalups, 2000). Kwikcomponenten oefenen vaak clastogene (DNA-beschadigende) effecten uit op eukaryotische cellen waarbij ze handelen, als inhibitor en zo c-mitosis en bijgevolg aneuploïdie (verlies van een chromosoom uit het genoom) en polyploïdie (toevoeging van een genoom tot de chromosoomsamenstelling) veroorzaken (De Flora *et al*., 1994). Selenium heeft een beschermende functie voor kwikintoxicatie. Koeman *et al*. (1973) rapporteerde een 1:1 correlatie tussen selenium en kwik bij mariene zoogdieren waarbij de metallothioneinen een ondergeschikte rol blijken te spelen bij de binding en de detoxificatie van kwik in mariene zoogdieren (Das *et al*., 2000). Kwik is ook in staat om de koppelingsprocessen van iodide in de thyroidklier te inhiberen waardoor de thyroïdhomeostase verandert (Nishida *et al*., 1986). Deze laatste wordt ook door andere xenobioten zoals PCB's beïnvloed (Brouwer *et al*., 1998).

In een algemeen overzicht van de effecten van zware metalen op paling meldt Bruslé (1987) dat de toxische waarde van kwikchloride ($HgCl_2$) op jonge Japanse paling (*A. japonica*) 0,02 ppm (hoogste getolereerde concentratie bij 20-22°C gedurende 50h) is. Voor de Europese paling (*A. anguilla*) zouden 1 ppm Hg en 50 ppm Cd letaal zijn. Hij zegt dat de LC50 96h waarde van Cd op glasaal hoger is dan 20 000 µg l^{-1}. Het letaal effect van $HgCl_2$ wordt toegeschreven aan een verstoring van de NaCl-balans in paling: kwik interageert in de kieuwen met de beweging van de actieve ionen en met de osmoregulatorische processen. Het stilvallen van het osmoregulatorisch mechanisme lijkt afhankelijk te zijn van de specifieke invloed van de polluent op de Na-pomp (snel verlies van K en water en een toename van het Na-gehalte) en gecorreleerd met de membraanpermeabiliteit en de verstoring van de enzymsystemen (Bruslé, 1987).
Bruslé (1989) meldt dat een acute intoxicatie van $HgCl_2$ (4 µmol dm^{3-1}) en van $CdCl_2$ (445 µmol dm^{3-1}) mortaliteit veroorzaakt bij Europese paling na 5-10 uren blootstelling (Noël-Lambot & Bouquegneau, 1977). De accumulatie van Hg is groter dan die van Cd voor alle organen. Het letale effect van $HgCl_2$ kan toegeschreven worden aan een verstoring van de NaCl balans: in de kieuwen werkt kwik in op de actieve ionenbeweging, het NaCl transport en het osmoregulatorisch proces (Bouquegneau, 1973, 1977). Het defect in de osmoregulatorische mechanismen lijkt een gevolg van de specifieke reactie van het polluent op de Na-pomp (snel verlies van K en water, een toename van de Na-concentratie door een inhibitie van de Na^+K^+ATPase activiteit bij 3 x 10^{-6}M $HgCl_2$ of 8 x 10^{-6}M CH^3HgCl_2) (naar Bouquegneau, 1977). Het defect is ook gecorreleerd aan veranderingen in de membraanpermeabiliteit en verstoringen in het enzymsysteem (Bouquegneau & Distèche, 1973).

Jarvenpaa *et al*. (1970) bekeken de eliminatie van kwik bij paling en zagen dat de halfwaardetijd voor excretie redelijk hoog lag: 910 tot 1030 dagen. Dus het metaal wordt op een efficiënte manier vastgehouden en extreem traag uitgescheiden.

C. Cadmium

Wereldwijd komt ongeveer 25 000 ton cadmium in het milieu terecht waarvan de helft via natuurlijke processen zoals erosie, bosbranden en vulkaanuitbarstigen (MIRA-T, 2002). Cadmium heeft ook een groot aantal industriële gebruikers zoals Cd-batterijen, anticorrosieve coating van metalen, pigmenten en stabilisatoren voor plastic (Stoeppler, 1991). Canada is de voornaamste producent, gevolgd door

[6] Methallothioneïnen spelen een belangrijke rol in de interne regulatie van zowel essentiële als niet-essentiële metalen. Het is een transporteiwit waaraan metalen worden gebonden naargelang hun bindingscapaciteit (Hg>Ag>Cu>Cd>Zn).

de V.S., Australië, Mexico, Japan en Peru. De wereldproductie bedraagt 14 000 ton per jaar (MIRA-T, 2002).
Wanneer cadmium accumuleert in het aquatisch ecosysteem, kan het de voedselketen via verschillende wegen binnenkomen: door de directe consumptie van water of biota en door absorptie door het epitheel (Ruangsomboon & Wongrat, 2006). Kieuwen, huid en het spijsverteringskanaal zijn voor vissen mogelijke absorptiekanalen van cadmium. Cadmium zou effecten hebben op het kieuw- en levermetabolisme, de hematopoëse (vorming van bloedcellen) en embryologische en post-embryologische ontwikkeling (Gony, 1987). Ruangsomboon & Wongrat (2006) voerden een experiment uit met fytoplankton (*Chlorella vulgaris*), zoöplankton (*Moina macrocopa*) en katvis (*Clarias macrocephalus* x *C. gariepinus*) om de bioaccumulatie van cadmium (0; 0,35 en 3,50 mg l^{-1} Cd voor katvis) in de aquatische voedselketen na te gaan. Ze kwamen tot de conclusie dat de hoogste cadmiumaccumulatie plaatsvond op het niveau van de primaire producenten, gevolgd door de primaire en secundaire consumenten. Pas op het moment dat de hoeveelheid geaccumuleerde cadmium de mogelijkheid van de vis om detoxificerende metallothioneïnes (transporteiwit) te produceren overschrijdt, wordt cadmium naar andere organen uitgescheiden. De hoogste concentraties worden in de darmen, nieren en lever teruggevonden (Handy, 1992) maar evengoed in de spieren (Suresh *et al*., 1993).

Zhu *et al*. (2006) onderzochten de toxiciteit van cadmium in het hersenweefsel van *Paralichthys olivaceus* (zomervogel). Zij wijzen erop dat Cd^{2+} bij hogere eukaryoten gebonden kan worden door methallothioneïnes ook al hebben die een hoge cysteïnylconcentratie. Cadmium kan ook gedetoxificeerd worden door te binden aan glutation of fytochelatine. Zhu *et al*. (2006) ontdekten dat vissen bij een acute cadmiumblootstelling (1; 2; 3; 5; 10; 15 en 20 ppm) een onregelmatig zwemgedrag vertonen en een overdreven mucusproductie op het operculum. De vissen hyperventileerden na 24h blootstelling aan cadmiumconcentraties van 3 en 5 ppm en dat werd erger na 24h blootstelling aan 10 en 15 ppm Cd. Na 24h blootstelling aan 20 ppm Cd gingen de vissen dood. In de controlegroep was er geen mortaliteit. Men kan, gebaseerd op deze gedragsrespons, aannemen dat cadmium in het zeewater de hersenen van vissen onmiddellijk aantast. Bovendien veronderstelt men dat verschillende toxische proteïnen in de vissenhersenen significant geïnduceerd worden tengevolge van de cadmium ionen die in het zeewater aanwezig zijn. De resultaten impliceren ook dat contaminatie in een range van 1,0 tot 5,0 ppm een sub-chronische cadmiumblootstelling en in een range van 10 tot 12 ppm een acute cadmiumblootstelling betekenen (Zhu *et al*., 2006). Zhu *et al*. (2006) vermelden ook dat een acute Cd^{2+} blootstelling necrosis en celschade oplevert in de nieren, lever, het testikelweefsel en de hersenen terwijl een chronische blootstelling schade toebrengt aan de nieren en de beenderen.

Sures & Knopf (2004) beschrijven dat eerdere studies reeds aantoonden dat blootstelling aan cadmium de celgemedieerde en humorale immuunrespons bij vissen beïnvloedt. Dit houdt een toegenomen fagocytose[7] activiteit in en chemiluminicentie in de macrofagen, wisselende aantallen leucocyten, wisselende lymfocyten activiteit en wijzigingen in de antilichaamproducerende cellen. De immunomodulatorische effecten van cadmium daarentegen zijn afhankelijk van de gevoeligheid van de soort, het tijdstip en blootstellingweg, evenals de toegepaste concentratie.

Gony (1987) onderzocht de effecten van cadmium op jonge gele paling. Ze zag dat er reeds na een contaminatie (5 µg l^{-1}) van twee uren structurele veranderingen optraden in de kieuwen zoals een zwelling van de primaire en secundaire lamellen (SEM) veroorzaakt door epitheel hypertrofie (abnormale toename in omvang en gewicht van een orgaan) en een opeenhoping van secundaire lamellen. Op hetzelfde moment verschijnen melanismen (donker pigment) in de kieuwbloedvaten (de aanvoe-

[7] De eigenschap van sommige cellen om bacteriën of schadelijke stoffen te kunnen vernietigen.

rende en afvoerende kieuwarteries naast de kieuwboog). Mucuscellen nemen toe in aantal en grootte en chloridecellen worden moeilijk zichtbaar omwille van de opzwelling van de omringende epitheelcellen. Afhankelijk van de individuele respons op de cadmiumblootstelling treden ook andere verwondingen op zoals afschilfering van het epitheel en het uiteenvallen of versmelten van lamellen.
Ook het leverweefsel wordt snel beïnvloed door cadmiumblootstelling. Na een blootstelling van twee uren duwen infiltrerende vetten de nucleus en de cytoplasmatische componenten in de richting van de bloedvaten en een verwijde sinusoïde (sinusachtige verwijding voorkomend in de lever en de milt). Na een contaminatieperiode van één tot drie dagen neemt deze infiltratie toe en beschadigt de parenchym homogeniteit. Na één dag contaminatie worden er drie zones in de lever onderscheiden:

i) de infiltratiezone van de lipiden
ii) een necrose zone waarbinnen de cellen in grootte afnemen en een donker gevlekt cytoplasma hebben
iii) de hepatocyten zijn grote cellen met een centrale kern maar met een dicht cytoplasma zoals levercellen die aan het regenereren zijn. Bovendien vertoont de sinusoïde een gelijkaardige uitzetting. Dit is een symptoom van fibriose.

Normaal wordt een infiltratie van lipiden enkel gerapporteerd bij een sterke metaalvervuiling. Daarom kunnen deze celveranderingen beschouwd worden als een typische weefselreactie op zware metalen

Na twee uren blootstelling verdwijnt plaatselijk de afgeschilferde epidermislaag. De huidbeschadiging neemt toe doorheen de contaminatie fase: na één dag blootstellen wordt plaatselijk ernstige huiderosie aangetroffen en na drie dagen worden beginnende zweren gezien (Figuur 4.6). Gedurende de decontaminatie fase treedt er een omkeer op: na 28 dagen heeft de huid opnieuw zijn normaal uitzicht. Het lijkt erop dat de buitenste huidlaag onmiddellijk gevoelig is voor cadmiumcontaminatie in het water en dat wanneer cadmium niet langer aanwezig is, tijdens de decontaminatie fase, de generatieve epidermislaag de normale epidermisstructuur herstelt.
Het vergelijken van de verschillende patronen in de drie organen laat zien dat er:

- geen herstel optreedt in de kieuwen, tenzij er een decontaminatie plaatsvindt
- een gedeeltelijk herstel van de lever is
- een totaal herstel van de huid optreedt na een decontaminatie fase.

Deze patronen kunnen verklaard worden door de mogelijkheid van de lever en de kieuwen om zware metalen op te nemen en op te slaan, vooral cadmium dat een continue verstoring veroorzaakt zelfs na een decontaminatieperiode en voor ernstige beschadigingen kan zorgen bij paling ondanks dat het in lage concentraties voorkomt.



Figuur 4.6: Foto van een geïnduceerd ziektebeeld thv een RWZI op het Boudewijnkanaal. © G. Goemans.

Lionetto *et al*. (1998) onderzochten het effect van cadmium op de in vitro activiteiten van Na^{+}-K^{+}-ATPase en koolstofanhydrase (CA) op de ingewanden en kieuwen van paling. Na^{+}-K^{+}-ATPase activiteiten werden geremd bij toenemende cadmiumconcentraties (0,5-50 µM, in één uur incubatie). Deze remming was dosis-afhankelijk: er trad een maximale remming (ongeveer 80%) op bij 5 µM en 50 µM $CdCl_2$ voor de kieuw- en de ingewanden Na^{+}-K^{+}-ATPase. Koolstofanhydrase activiteiten werden significant geremd door pre-incubatie (1h) met $CdCl_2$. Er trad een maximale remming op (ongeveer 80%) bij de kieuw-CA bij 60 µM, hogere concentraties gaven geen verdere significante remming. De cytosolische en membraan gebonden ingewanden-CA vertoonden een lagere gevoeligheid voor de zware metalen in vergelijking tot de kieuw-CA-activiteit omdat de hoogste geteste concentratie $CdCl_2$ (600 µM) een respectievelijke remming van 30% tot 50% veroorzaakte. De resultaten van deze studie suggereren dat cadmium, door het remmen van de CA activiteit en de Na^{+}-K^{+}-ATPase enzymes in de ingewanden en de kieuwen, zowel het zuur-base evenwicht als de osmoregulatie bij teleosten kan wijzigen (Lionetto *et al*., 1998).

De Amerikaanse paling (*A. rostrata*) vertoont een chronische verhoging van de plasma cortisolwaarden bij een lange termijn blootstelling (16 weken) aan cadmium (150 µg l^{-1}) (Gill *et al*., 1993). Gedurende deze tijdspanne stonden de palingen onder (additionele) stress (CO_2 gedurende 1 min.) met als gevolg een verder toenemend plasma cortisol. Na twee weken blootstelling aan 75 en 150 µg l^{-1} Cd zijn de plasma glucosewaarden significant gedaald. Hoewel ze daarna opnieuw toenemen naar een waarde dicht bij het controleniveau. Uit de studie wordt besloten dat vervuiling van het palinghabitat met cadmium een chronische stimulatie van de adrenocorticale as bij de (Amerikaanse) paling veroorzaakt wat resulteert in een voortdurende hypercortisolemie (overmaat aan cortisolproductie) die het metabolisme, het immuunsysteem, de gonadale rijping en mogelijkheid om naar de paaigebieden te migreren serieus beïnvloedt (Gill *et al*., 1993).

D. Zink

Zink is een essentieel sporenelement: het is immers nodig voor de aanmaak van het koolzuuranhydrase en voor meer dan 70 andere enzymen. Zink wordt in het lichaam opgestapeld. In het bloed wordt het aan eiwitten gebonden. De hoogste concentraties worden in de prostaat en testes gemeten.

McGeer *et al*. (2000) bekeken het verband tussen groei, voedingsgedrag, ionregulatie, zwemgedrag en zuurstofconsumptie bij regenboogforel bij een chronische blootstelling (tot 100 dagen) aan subleta-

le waarden van Zn (250 µg l^{-1}), Cu (3 µg l^{-1}) en Cd (75 µg l^{-1}) in hard water (hardheid van 140 mg l^{-1}, pH 8). Het is immers zo dat Zn, Cu en Cd acute toxische reacties kunnen veroorzaken in zoetwatervissen afhankelijk van de watersamenstelling, vissoort, leeftijd en temperatuur. In de meeste waters zijn zware metalen enkel in subletale concentraties aanwezig en er is maar weinig geweten over de effecten van chronische subletale blootstelling in vissen. Bovendien is het moeilijk om inzicht te krijgen in subletale responsen van Cu en Zn daar ze beide noodzakelijke micronutriënten zijn. Chronische subletale blootstelling resulteert normaal gesproken in acclimatisatie, een fysiologisch proces dat resulteert in een toegenomen tolerantie aan acute blootstellingen aan zware metalen. Dit proces wordt gekarakteriseerd door drie fasen: een initiële 'shock' fase, een herstelfase en dan de acclimatisatie zelf. De initiële shock fase is een periode van fysische schade vooral aan de kieuwen en verstoringen van de interne fysiologische homeostase (zelfregulering). De schadefase duurt meestal kort (een paar dagen). Daarna start het herstel door toenemende biosynthetische processen (mitose, verhoogde proteïnesynthese) die zullen helpen om de schade te herstellen en de fysiologische processen te corrigeren. Inherent aan de herstelfase is de mobilisatie van de metaalbindende proteïnen zoals metallothioneïne (Bradley *et al*., 1985; Hogstrand & Wood, 1996) en het corrigeren van andere paden om het schadelijk effect van de metalen tegen te gaan of te bestrijden vb. die gerelateerd aan ionregulatie (Lauren & McDonald, 1987a, b; Hogstrand *et al*., 1995).
In het experiment van McGeer *et al.* (2000) zag men voor de drie metalen eenzelfde patroon van verstoring, herstel en stabilisatie, al verschilde de mate van verstoring, de specifieke respons en het tijdsverloop. De groei werd niet verstoord bij oververzadiging door één van de metalen maar de eetlust nam toe bij aan Cu en af bij aan Cd blootgestelde forel. De kritische zwemsnelheid nam significant af bij chronische Cu blootstelling, een effect dat geassocieerd is met de verhoogde zuurstofconsumptie snelheid bij hogere zwemsnelheden. De Na^+/K^+-ATPase activiteit in de kieuwen werd bij Cu-blootstelling verhoogd maar niet bij Cd-blootstelling. Verstoring van het Na^+ en Ca^{2+} evenwicht trad op na twee dagen blootstelling aan Cu, Cd of Zn. Het verlies aan Ca^{2+} bleef het langst zichtbaar bij aan Cd blootgestelde forel en herstel duurde ongeveer één maand. De fysiologische respons van forel op chronische Cu-blootstelling had betrekking op mechanismen geassocieerd aan metabolische kosten terwijl Cd-blootstelling geen metabolische kosten op lange termijn had (McGeer *et al*., 2000). Wanneer het accumulatiepatroon van de zware metalen in het weefsel bekeken wordt, blijkt Zn niet te accumuleren in de lever en de nieren terwijl er wel kleine hoeveelheden accumuleerden in de kieuwen en het lichaamsweefsel. Cu accumuleert in de eerste plaats in de lever terwijl Cd hoofdzakelijk in de nieren opslaat.
De eliminatie van zink verloopt traag (Baudin, 1981).

E. Selenium

Selenium is van nature aanwezig in oppervlaktewaters in concentraties rond 0,1-0,3 µg l^{-1} (parts per billion; Lemly, 1985a). Het kan in grotere hoeveelheden bioaccumuleren in aquatische voedselketens en zodanig geconcentreerd worden dat het toxische concentraties bereikt in vis en fauna (Lemly, 1993).
Selenium wordt het meest opgeslagen in de lever en de nieren. Ook in het bloed, spieren en de testes meet men hoge seleniumwaarden. Het wordt geïncorporeerd in aminozuren en komt alzo in de eiwitten terecht. Vroeger was selenium enkel gekend om zijn hoge toxiciteit. In hoge concentraties verstoort het de celwerking door blokkering van de sulfhydrylgroepen van eiwitten en enzymen. In extreme hoeveelheden ingenomen zou het kankerverwekkend zijn. Naar alle waarschijnlijkheid is selenium ook een essentieel sporenelement. Het wordt in het glutationperoxydase aangetroffen, een enzym dat de cellen beschermt tegen oxidatieve afbraak door peroxiden en hydroperoxiden om te zetten in onschadelijke producten. In lage dosissen zou het nog heel wat heilzame functies uitoefenen zoals het

genezen van spierdystrofieën (spierzwakte) en cardiomyopathie (ziekte van de hartspier). Ook zou het bescherming bieden tegen hoge dosissen zware metalen, artritis en ouderdomsverschijnselen. Bovendien zou het kanker en levernecrose tegengaan.

Lemly (1996) beschreef dat selenium, vrijgekomen door de verbranding van steenkool in elektriciteitscentrales, in de VS vele belangrijke reservoirs gecontamineerd heeft wat weer geleid heeft tot de achteruitgang van de voortplanting en het uitsterven van hele visgemeenschappen (Cumbie & Van Horn, 1978; Garrett & Inman, 1984; Woock & Summers, 1984; Woock *et al.*, 1985: Lemly, 1985b, 1993). Het grootste gevaar voor seleniumcontaminatie bestaat wanneer de blootstellingconcentratie hoog is en optreedt tijdens het broedseizoen (Lemly, 1996).

In de Belews Lakes (North Carolina) werd in 1975, 1978, 1982 en 1992 het voorkomen van abnormaliteiten en de daarmee geassocieerde seleniumresidu's in visweefsel onderzocht (Lemly, 1993). De aangetroffen teratogene (misvorming veroorzakend) effecten waren onder andere lordosis (ziekelijk voorwaarts gekromde ruggengraat), kyfose, scoliose (blijvende zijwaartse ruggengraatsverkromming) en vervorming van de kop, mond en vinnen. Andere aangetroffen abnormaliteiten waren oedeem, exopthalmus (ziekelijke uitpuiling van de oogbol) en cataract. De vervormingen aan skelet, vinnen en kop werden bij juveniele vissen aangetroffen terwijl oedeem, exopthalmus en cataract ook bij adulte vissen werden gevonden. Veel vissen vertoonden meerdere misvormingen en sommige hadden een zeer sterk vervormde verschijning. In 1975 varieerden de seleniumresidu's in het lichaamsweefsel van vissen uit de Belews Lakes tussen 40-67 µg g^{-1} (drooggewicht) terwijl de residu's uit referentiestalen lager waren dan 2,4 µg g^{-1}. In 1978 waren de seleniumwaarden zo goed als verdubbeld, variërende tussen 80-132 µg g^{-1} terwijl de referentiewaarden dezelfde bleven. In 1980 daalden ze lichtjes (82-120 µg g^{-1}) en de daling zette door in 1992. De teratogene effecten namen toe met toenemende seleniumwaarden in 1975 en 1982 en namen weer af wanneer de seleniumwaarden in de Belews Lakes verminderden in 1982 en 1992 (Lemly, 1993).
In laboratoriumstudies werd aangetoond dat selenium misvormingen veroorzaakt bij reproducerende vissen. Misvormde jongen werden geboren wanneer aan de ouderdieren tijdens de paaiperiode selenomethionine in het dieet werd toegediend (Woock *et al.*, 1987) of wanneer ze in oplossingen met sodiumselenaat werden gehouden (Pyron & Beitinger, 1989). De aangetroffen vervormingen waren opgezwollen pericardiale en abdominale holten, lordosis, kyfose, scoliose, misvormde koppen en monden en misvormde staartverbindingen. Verder werd aangenomen dat deze teratogene effecten dodelijk zijn nog voordat de vis tot volwassen individu is uitgegroeid omdat de bestudeerde larven meestal stierven voor ze volwassen waren (Gillespie & Baumann, 1986; Woock *et al.*, 1987; Pyron & Beitinger, 1989; Schultz & Hermanutz, 1990; Hermanutz, 1992; Hermanutz *et al.*, 1992).

Pedersen *et al*. (1998) onderzochten het effect van selenium op de opname van kwik doorheen de kieuwen van regenboogforel. Kwik wordt door de kieuwen uit het water opgenomen en de opnamesnelheid bereikt een stabiel niveau na 30 min. doordringing. Wanneer de kieuwen na één uur blootstelling aan kwik in kwik-vrij water geplaatst worden, blijven ze significante hoeveelheden kwik vrijstellen. Blootstelling aan seleniet (zout van selenigzuur) of selenaat (zout van seleenzuur) (0,075-0,75 µM) beïnvloedde noch de opname noch de vrijstelling van kwik doorheen de kieuwen. Seleniet of selenaat (7,5 µM) verhoogde de opname van kwik doorheen de kieuwen en seleniet verhoogde de hoeveelheden vrijgestelde kwik tijdens de kwik-vrije periode. Intern selenium verhoogde de kwikaccumulatie in de kieuwen terwijl externe selenium de kwikaccumulatie niet beïnvloedde. De opname van selenium uit het water door de kieuwen gebeurt zeer traag.

F. Aluminium

Aluminium is één van de meest voorkomende metalen in de aardkost. Het is dan ook overal aanwezig. Birchall *et al*. (1989) rapporteerden dat een verhoogd aluminium niveau in natuurlijk verzuurd water de voornaamste doodsoorzaak is door schade aan het kieuwepitheel en een verlies aan osmoregulatie capaciteit. De aluminiumtoxiciteit is afhankelijk van het soort Al (met een actief kation, neutraal of anionisch) en wordt dus beïnvloed door de pH en de aanwezigheid van samengestelde liganden zoals fluoride en organische materialen zoals humuszuur dat de aluminiumtoxiciteit verbetert. In deze studie werd aangetoond dat bij een overmaat aan Si op Al en met de vorming van hydroxy-aluminosilicaat vormen, de biobeschikbaarheid van Al bij een pH 5 gereduceerd wordt en de toxiciteit teniet gedaan (Birchall *et al*., 1989). Exley *et al*. (1997) bevestigen dat de reactie van siliciumzuur met aluminium om hydroxy-aluminosilicaat te vormen, de biobeschikbaarheid en dus zo de toxiciteit van Al verminderen.

G. Koper

Rødsæther *et al.* (1977) zagen dat paling die in met koper (30-60 µg) vervuild water zat na een periode van 50 dagen symptomen van vibriose[8] begon te vertonen en stierf. *Vibrio anguillarum* werd aangetroffen in het bloed van paling die de symptomen van vibriosis vertoonden en dit na blootstelling aan koper. Er werden geen andere bacteriën in het bloed gevonden. Deze resultaten duiden erop dat koper het binnenkomen van de *V. anguillarum* in de bloedbaan van vissen vergemakkelijkt.
Koper en andere zware metalen veroorzaken stollingen in de slijmlaag van de kieuwen en verhinderen zo het zuurstoftransport (Westfall, 1945). Dit leidt op zijn beurt tot ademnood (asfyxie). De palingen in deze studie vertoonden echter geen tekenen van ademnood. Daarom wordt aangenomen dat koper meer subtiele fysiologische veranderingen heeft veroorzaakt die de weerstand van palingen voor vibriosis heeft doen afnemen.

Grosell *et al*. (1996) onderzochten het effect van de blootstelling aan koper bij Europese paling. De accumulatie van koper in de kieuwen, lever en spierweefsel werd bestudeerd voor de opname van ^{64}Cu gedurende een 67h blootstelling aan 8 en 64 µg Cu l^{-1}. Tabel 4.5 geeft een overzicht van de opzet van het experiment. Zij zagen dat blootstelling aan 64 µg Cu l^{-1} de ^{64}Cu-accumulatiesnelheid in het kieuwweefsel niet beïnvloedt. De steady-state voor de accumulatie in de kieuwen treedt 2-3 dagen na blootstelling op. Dit wil zeggen dat de koperconcentratie in de kieuwen vanaf dat moment constant blijft en dat de koperopname door het apicaal membraan van de kieuwepitheelcellen gelijk is aan het netto kopertransport doorheen het basolateraal membraan naar de bloedbaan. De totale koperconcentratie in het leverweefsel wijst erop dat er na één week blootstelling een maximum accumulatieniveau behaald is zowel bij 64 als bij 8 µg Cu l^{-1}. De duidelijk afgenomen koperaccumulatie in het spierweefsel bij een toenemend lichaamsgewicht kan te wijten zijn aan een afnemende kieuwoppervlakte/lichaamsgewicht verhouding bij een toenemende lichaamsgrootte. Lichaamsgewicht afhankelijke koperaccumulatie werd ook aangetroffen in de lever van baars die blootgesteld was aan in het water aanwezig koper. In het beschreven experiment werd er geen verband tussen de lichaamslengte en koperaccumulatie in de lever aangetoond waarschijnlijk omdat paling door een toegenomen koperexcretie veel minder koper accumuleert dan baars. Hoewel de accumulatiesnelheden in lever en spierweefsel significant gereduceerd werden na 8 en 26 dagen van blootstelling aan 64 µg Cu l^{-1} (maar niet bij 8 µg Cu l^{-1}), werd de opname in de kieuwen niet beïnvloed door de blootstellingtijd maar door de duur van de ^{64}Cu incubatieperiode en de concentratie ($p< 0{,}0005$ en $p< 0{,}00005$ respectievelijk).

[8] Bacteriële ziekte veroorzaakt door *Vibrio anguillarum* en is verantwoordelijk voor onstekingen in de huid.

Tabel 4.5: Opstelling van het ^{64}Cu experiment (Grosell *et al*., 1996)

Blootstellingtijd (dagen)	Blootstellingtijd en/of incubatieconcentratie (µg Cu l^{-1})	^{64}Cu incubatietijd (h) 3	10 (aantal vissen)	30	67
0 (controle)	8	5	5	5	6
	64	5	5	4	6
6	8	5	5	4	6
	64	/	5	5	6
28	8	5	5	5	5
	64	5	5	5	5

Grosell *et al*. (1998) deden een gelijkaardig experiment om het metabolisme en de eliminatie van koperopname bij gevoede en niet gevoede paling te onderzoeken. De accumulatie van ^{64}Cu en de totale koperconcentratie in de kieuwfilamenten, plasma, lever en gal werd gemeten gedurende een 28 dagen blootstelling aan 12 en 94 µg Cu l^{-1}. De koperopname in de kieuwen ligt tussen 0,03 en 0,13 µg Cu l^{-1} g kieuwfilament-1 h^{-1} bij 12 en 94 µg Cu l^{-1}, respectievelijk, doorheen de 28 blootstellingdagen. Bij blootstelling aan 94 µg Cu l^{-1} is het basolateraal membraan de limiterende stap voor koperopname in de kieuwen. De plasma Cu-concentraties stegen van 0,64 naar 1,92 en 2,68 µg Cu ml^{-1} gedurende de eerste zes blootstellingdagen en normaliseerden daarna geleidelijk naar 1,07 en 1,45 µg Cu ml^{-1} en naar 12 en 94 µg Cu ml^{-1} na 28 blootstellingdagen ondanks een constante koperopname via de kieuwen die wijst op een toegenomen ommezwaai van het plasma koper. De ^{64}Cu-concentratie in de lever was constant bij de gevoede en niet gevoede palingen (0,55 µg Cu g lever-1 h^{-1}) bij beide Cu-concentraties gedurende 28 blootstellingdagen. De totale Cu-concentratie in de lever was lager bij de gevoede paling vergeleken met de niet gevoede en steeg miniem tussen 3 en 28 blootstellingdagen wijzend op een hoge ommezwaai van Cu in de lever gedurende de acclimatisatie. De lever Cu-concentratie, als ^{64}Cu in de gal, was het hoogst bij de gevoede paling bij de hoogste Cu-concentratie en werd bij de niet gevoede paling gestimuleerd gedurende de acclimatisatie.

Buckley *et al*. (1982) en Collvin (1984) vonden reeds eerder dat blootstelling aan koper de groeisnelheid van verschillende vissoorten beïnvloedt. De gerapporteerde groeisnelheidafnames zijn allemaal gerelateerd aan een afgenomen eetlust. En omdat de paling in het beschreven experiment niet gevoederd werd, was eetlust niet bepalend. Eerder werd ook aangetoond dat paling een slechte indicator is voor koper omdat jonge palingen in staat zijn om hun totale koperconcentratie te regelen onafhankelijk van de koperconcentraties in hun omgeving. De resultaten tonen aan dat lage koperconcentraties (8 µg Cu l^{-1}) in paling teruggevonden kunnen worden. Hoewel, en dit is in overeenstemming met resultaten van Amiard-Triquet *et al*. (1987), men op basis van de aangetroffen concentraties niet in staat is om de duur van de kopervervuiling aan te tonen omdat die niet zichtbaar is in de geaccumuleerde koperconcentraties in de weefsels. Ook de invloed van het lichaamsgewicht op de koperconcentratie in het spierweefsel begrenst het gebruik van paling als indicatorsoort voor kopervervuiling (Grosell *et al*., 1996).

Zowel de redoxreactie van zware metalen als hun interferenties met organische polluenten vormen een belangrijke bijdrage aan oxidatieve stress ten gevolge van watervervuiling. Ahmad *et al*. (2005) onderzochten de oxidatieve stressrespons bij Europese paling bij een 24h durende blootstelling aan twee koperconcentraties (Cu; 1 microM, 2,5 microM) en aan beta-naftoflavoon (BNF; 2,7 microM) met of zonder 24h pre-blootstelling aan BNF (2,7 microM). De optredende oxidatieve stressresponsen op de kieuwen en nieren zijn vetperoxidatie (LPO), glutation peroxidatie (GPX), katalase (CAT), glutation

S-transferase (GST) en totaal gereduceerde glutation (GSH). Blootstelling aan koper of BNF kan noch in de nieren noch in de kieuwen LPO induceren. Een tweevoudige blootstelling aan BNF in beide organen echter induceert LPO en een opeenvolgende blootstelling aan BNF/Cu doet het risico op het optreden van peroxidatieve schade in beide organen toenemen. BNF/Cu interferentie op antioxidant responsen verschilt tussen beide organen. In de kieuwen worden de antagonistische effecten aangeduid door een toename in peroxidatieve schade. In de nieren voorkomt pre-blootstelling van BNF CAT en GPX inhibitie door koper; toch had dit effect invloed tegen de vorming van LPO. Wanneer BNF als een surrogaat voor PAK en de interacties met koper gezien wordt en als aangenomen wordt dat deze effecten in vervuilde ecosystemen kunnen optreden, dan tonen deze resultaten hun relevantie aan om een beter zicht te krijgen op de kennis van oxidatieve stress mechanismen in vis (Ahmad *et al*., 2005).

H. Arseen

Arseen is een metalloïde en bezit zowel metaal- als niet-metaaleigenschappen. Het komt onder natuurlijke omstandigheden voor onder zowel organische als anorganische vorm. Arseen is het 20ste meest voorkomende element in de aardkorst. Via erosie wordt het beschikbaar en kan het opwaaien of komt het terecht in oppervlaktewater. Andere natuurlijke bronnen van As zijn de uitstoot door vulkanen en de productie van methylarsines door micro-organismen. De globale natuurlijke emissie van As bedraagt 12 000 ton per jaar. Planten absorberen gemakkelijk As, zodat As-concentraties hoger in de voedselketen accumuleren. Vooral aquatische organismen worden getroffen door het accumulerende effect. Anorganisch As lost immers slecht op in water wat de (bio)beschikbaarheid aan As doet toenemen in vergelijking met gebonden of opgeloste vormen. Vissen en visetende vogels kunnen bijgevolg sterven aan arseenvergiftiging (MIRA-T, 2005c).

I. Chroom

Chroom is het hoofdmetaal in legeringen van verschillende types roestvrij en hitteresistent staal. Andere toepassingen binnen de industrie zijn pigmentatie van verven, leerlooierij, fungicide, houtbeschermingsmiddel. De concentratie Cr in de aardkorst bedraagt gemiddeld 100 mg kg^{-1}. Het komt van nature voor in vele gesteenten, bodems, sedimenten, water en de atmosfeer (omwille van opwaaiend stof en vulkanenuitbarstingen). Kleinere bronnen zijn zeezout en omdat planten Cr onttrekken uit de bodem, bosbranden. Cr komt ook voor in steenkool.
Cr^{3+} is een essentieel element voor organismen. Het suikermetabolisme functioneert slechter zonder Cr^{3+}. Cr^{6+} is toxisch voor vele organismen en leidt tot genetische afwijkingen en kankers. Planten zijn uitgerust met een mechanisme om enkel Cr^{3+} op te nemen maar verzuring van de bodem kan de goede werking verstoren zodat toxische varianten toch de voedselketen binnen komen. Hoge concentraties nabij lozingspunten kunnen leiden tot de beschadiging van kieuwen in vis en tot onder andere ademhalingsproblemen.

Sugatt (1980) onderzocht de effecten van blootstelling aan chroom (onder de vorm van natrium dichroom) op de immuunrespons van juveniele cohozalm (*Oncorhynchus kisutch*) tegen *Vibrio anguillarum*. Subletale blootstelling in zoetwater deed hun resistentie en serum agglutinine productie afnemen. Onderzoeksexperimenten naar de ziekteresistentie tegen *V. anguillarum* waarbij zalm gedurende twee weken blootgesteld werd aan 0,0 of 0,5 mg Cr l^{-1} en vervolgens geïnjecteerd werd met ca. 3–4 × $10^{2–5}$ bacteries ml^{-1} dosis, toonde aan dat de mortaliteit toenam met de dosis en significant hoger was bij de aan Cr blootgestelde vis. De serum agglutinine productie werd significant geremd bij de blootgestelde zalm zes weken na de immunidatie (Sugatt, 1980).

Oliveira *et al*. (2003) onderzocht de effecten van chroom op een levercultuur van paling. Leverweefsel van een met beta-naftoflavoon (BNF, PAK gelijkende component; 4 mg kg^{-1}) geïnjecteerde paling werd na 24h voor 24h in cultuur gebracht onder vier verschillende condities: serumvrij (MEM-S); met serum (MEM+S); serumvrij met kaliumdichroom 1 mM (MEM-S+Cr); met serum en kaliumdichroom 1 mM (MEM+S+Cr). De lever ethoxyresorufin-*O*-de-ethylase (EROD) activiteit, cytochroom P450 (P450) gehalte en glutathione-S-transferase (GST) activiteit werden bepaald. De EROD-activiteit steeg significant na 24h in cultuur zowel in MEM-S als in MEM+S vergeleken met het controleniveau (0h). Weefselcultuur met chroom vertoont een grote significante daling in EROD-activiteit. Het experiment toonde aan dat het toevoegen van serum de daling van de lever EROD-activiteit die door chroom veroorzaakt wordt verhinderd. De P450-gehaltes varieerden niet veel onder de verschillende experimentele omstandigheden. De GST-activiteit in MEM+S was significant hoger dan bij MEM-S en ze nam ook significant toe in MEM-S+Cr vergeleken met MEM-S (Oliveira *et al*., 2003).

Teles *et al*. (2005) stelden paling gedurende 24h bloot aan Cr (100 M en 1 mM) of Cu (1 en 2,5 M) met of zonder eerdere blootstelling aan beta-naftoflavoon (BNF; 2,7 M). Het plasma cortisol, het tyroïd stimulerend hormoon (TSH), vrij triiodothyronine (T_3) en vrij thyroxine (T_4) werden bepaald om de effecten op de endocriene functies na te gaan. De T_4 waarde in het plasma nam af bij blootstelling aan Cr. De eerdere blootstelling aan BNF op Cr-effecten werd gezien onder de vorm van significante stijging van het plasma glucose. Blootstelling aan Cu verhoogde het plasma cortisol en glucose (2,5 M) evenals het plasma lactaat (1 M) terwijl bij beide Cu-concentraties een daling in het T_4 optrad. Eerdere blootstelling aan BNF verhinderde een toename in het plasma cortisol en lactaat terwijl een grotere toename in T_4 gezien werd bij 2,5 M Cu blootstelling. Deze voorbehandeling met BNF was cruciaal voor de genotoxische expressie daar alleen BNF +2,5 M Cu blootgestelde vissen een significante ENA-inductie (erythrocytic nuclear abnormalities) vertoonden. In het algemeen was T_4 het meest beinvloedde hormoon dat zowel op Cr als op Cu blootstelingen reageerde (Teles *et al*., 2005)

Ahmad *et al*. (2006) onderzochten de oxidatieve stress respons en hun rol bij de inductie van genotoxische effecten op kieuwen en nieren bij paling blootgesteld aan chroom met of zonder eerdere blootstelling aan beta-nafthoflavoon (BNF). De oxidatieve stress respons in kieuwen en nieren werd gemeten als vetperoxidatie (LPO), glutation peroxidatie (GPX), katalase (CAT), glutation S-transferase (GST)-activiteit en gereduceerde glutationconcentratie (GSH) terwijl de genotoxiciteit gemeten werd als DNA-strand breakage (het breken van de DNAstrengen). Paling werd gedurende 24h blootgesteld aan twee Cr-concentraties (100 microM, 1 mM) met of zonder eerdere blootstelling aan BNF (2,7 microM, 24h). In de kieuwen trad een daling van de GSH op tezamen met een verlies aan DNA-integriteit bij alle condities uitgezonderd bij de laagste Cr-concentratie. Bovendien is de sporadische inductie van antioxidant enzymes niet effectief bij de bescherming tegen genotoxiciteit. In de nieren blijkt er een ander mechanisme op te treden daar het verlies aan DNA-integriteit dat bij alle blootgestelde palingen aangetroffen werd, niet gepaard ging met veranderingen in de antioxidantwaarden. Wat de peroxidatieve schade betreft vertoonden beide organen een LPO-toename na een opeenvolgende blootstelling aan BNF en 100 µM Cr. Er kon nochtans geen verband gelegd worden tussen de LPO-inductie en de antioxidant respons. De interferentie van (pre-blootstelling aan) BNF met orgaan respons op Cr toont een afhankelijkheid van de Cr-concentratie aan. De kieuwen vertoonden een synergetisch effect van een toename aan LPO en GPX evenals een toename van CAT en GSH bij de laagste Cr-concentratie. Bij de hoogste concentratie daarentegen, werd een additief affect op de afname van de DNA-integriteit en een antagonistische effect op de toename van GPX gezien. In de nieren zijn synergetische effecten op een toename aan LPO en afname van GSH evident bij de laagste Cr-concentraties evenals een CAT en GST toename bij de hoogste concentratie. Er werd daaren-

tegen een antagonistisch effect op het verlies aan DNA-integriteit bij beide Cr-concentraties (Ahmad *et al.*, 2006).

J. Nikkel

Nikkel wordt vooral gebruikt in legeringen omwille van corrosieresistentie, warmteresistentie, hardheid en sterkte. Cu-Ni-legeringen (Monel-metaal) worden gebruikt in industriële loodgieterijen, zeebenodigdheden, petrochemische installaties, warmtewisselaars en vele andere producten. Andere toepassingen zijn ook nog het gebruik in batterijen, brandstofcellen, of als katalysatoren en dergelijke meer. Bijna alle nikkel op aarde zit opgesloten in de binnenste vloeibare ijzerkern die voor 10% uit nikkel bestaat (WHO, 2000). De oceaan vormt een ander belangrijk reservoir van Ni. In de aardkorst bedraagt de concentratie 0,008%. Nikkel is een essentieel element voor dieren. Nikkel bioaccumuleert niet doorheen de voedselketen.

IV.3.2. De invloed van zware metalen op de genetische variabiliteit

De impact van polluenten of giftige stoffen zoals zware metalen, pesticiden of industrieel afval op de genetische diversiteit en de structuur van natuurlijke populaties staat in verband met een afgenomen genetische variabiliteit in verontreinigde populaties, genotype specifieke overleving en de erop volgende verschuiving in de distributie van tolerante genotypen zonder het verlies aan diversiteit of significante correlaties tussen polluenten en allelfrequenties (Hvilsom, 1983; Fevolden & Garner, 1986; Klerks & Weiss, 1987; Patarnello & Battaglia, 1992; Postuma & Vanstraalen, 1993). Zware metalen lijken de allelische selectie en allelfrequentie verschuivingen bij polymorfische loci sterk te beïnvloeden.

IV.3.3. Zware metalen in palingpredatoren

Burger & Gochfeld (1985) voerden een experiment uit op acht paren van vijf dagen oude visdiefkuikens uit zoutmoeraskolonies in New Jersey waarbij telkens één visdiefkuiken een intraperitoneale inspuiting van 0,2 mg Pb g^{-1} kreeg en het andere kuiken van elk paar een inspuiting met een steriele zoutoplossing (controlegroep) kreeg. Op bepaalde dagen na het toedienen van de injecties werden gedragstesten naar voortbewegingsvermogen, evenwicht, oriëntatievermogen, diepteperceptie, thermoregulatie, bedelen voor voedsel, voedselbehandeling en leergedrag gedaan. De gewichtstoename was kleiner bij met lood behandelde kuikens (± 17g bij kuikens uit de controlegroep). Bij de meeste gedragstesten presteerden ze minder dan de kuikens uit de controlegroep. Zo hadden ze bijvoorbeeld veel meer tijd nodig om eenzelfde hoeveelheid vis te verorberen. Burger & Gochfeld (1985) concludeerden dat lood verscheidene gedragspatronen beïnvloedde, soms van voorbijgaande aard, waarbij de eerste effecten vijf dagen na de inspuiting optraden. De maximum getolereerde dosis was 0,80 $mg.g^{-1}$. In een ander onderzoek bekeken Gochfeld & Burger (1988) de respons van visdiefkuikens op lood. Daarvoor spoten ze vijf dagen oude visdiefkuikens in met 0,2 $mg.g^{-1}$ Pb in een 50 mg l^{-1} loodnitraat oplossing, de controlegroep kreeg een zoutoplossing ingespoten. De met lood behandelde groep woog minder dan de controlegroep. Omdat men geen verschil zag in het aantal vissen die gegeten werden, was de meest voor de hand liggende verklaring een verschil in het gebruik van de geconsumeerde vis. Op dagen 11 en 12 slikten de behandelde vogels trager dan de controlevogels terwijl bij deze laatste steeds meer bekwaam werden in het manipuleren van de gegeten vissen. Deze bekwaamheden werden niet teruggevonden bij de behandelde vogels. In nog een ander experiment

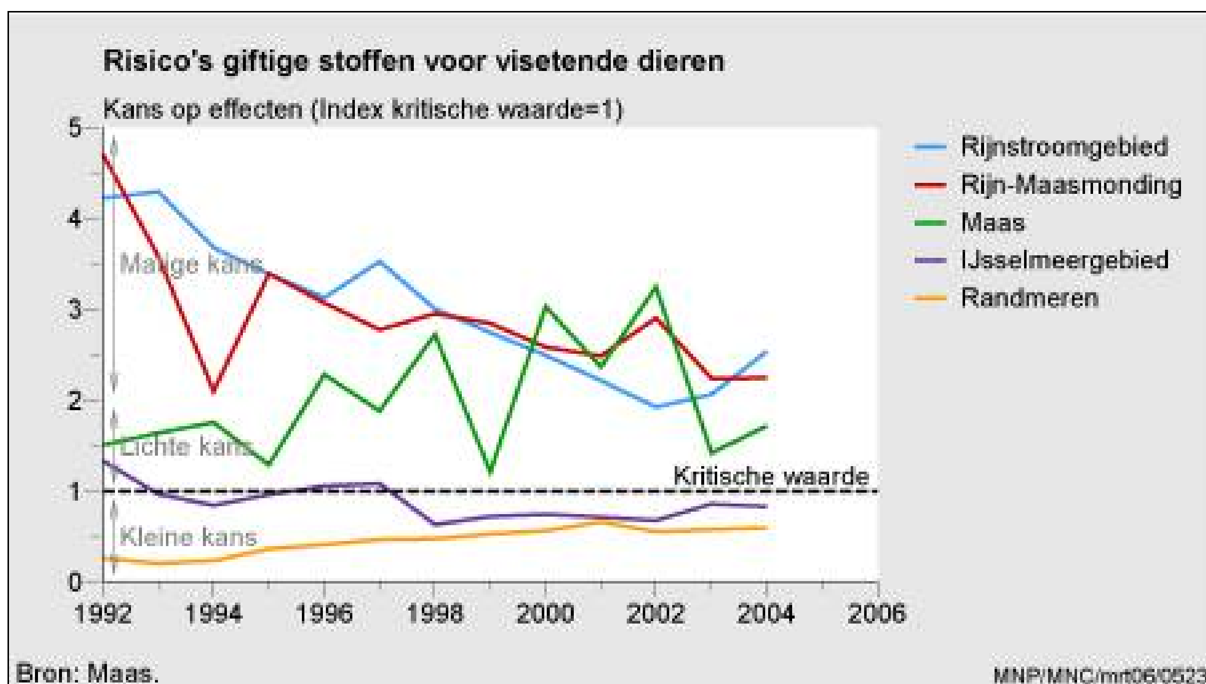
kregen drie dagen oude visdiefkuikens een intraperitoneale inspuiting van lood (0,2; 0,3; 0,4; 0,8; of 1,0 mg Pb g^{-1}) onder de vorm van een loodnitraat oplossing gelijk aan 200, 300, 400, 800, of 1000 mg Pb kg^{-1} lichaamsgewicht (Burger & Gochfeld, 1988). Op zeven dagen oude leeftijd kregen bepaalde kuikens een tweede dosis lood (0,2; 0,3; 0,4; of 0,6 mg.g^{-1}) onder de vorm van een loodnitraat oplossing gelijk aan 200, 300, 400, of 600 mg Pb kg^{-1}. Twee dagen na elke inspuiting werden gedragstesten uitgevoerd naar visuele rotsvoorstelling, voortbewegings- en oriëntatierespons. De gedragingen verschilden duidelijk voor alle dosissen en waren dosisafhankelijk. De initiële dosis beïnvloedde het gedrag meer dan de tweede dosis zij het dat de tweede dosis letaal was. De enkelvoudige dosis LD_{50} waarde voor lood is 1,0 mg.g^{-1} (1000 mg kg^{-1}) met 100% mortaliteit wanneer de vogels een totale dosis van 1,2 mg.g^{-1} (1200 mg kg^{-1}) kregen (Burger & Gochfeld, 1988).

Wren (1985) rapporteerde een Canadese otter (*Lutra canadensis*) die dood naast de rivier gevonden werd en zwaar vervuild was met kwik. Er werd een concentratie van 96 µg g^{-1} kwik aangetroffen in zijn lever. Sporen too nden aan dat de otter onregelmatig gedrag vertoonde zoals in cirkels lopen, voorovervallen en in de sneeuw graven voor hij stierf. Twee stervende Schotse otters werden met eenzelfde gedrag aangetroffen en hadden leverconcentraties hoger dan 30 µg g^{-1} (Kruuk & Conroy, 1991). Kruuk *et al*. (1993) analyseerden PCB's (16 congeneren), de organochloriden DDE, HEOD (dieldrin), HCB, HCH, TDE (tetraëthyl dithiopyrofosfaat) en kwik bij otters (N = 116) en paling (N = 88) uit Shetland, Orkney, Schotland en Noord-Engeland. Ze kwamen tot het besluit dat er bij de otter significante verschillen waren tussen de concentraties van de contaminanten in de verschillende gebieden. Van de geanalyseerde componenten waren enkel PCB's en kwik aanwezig in biologisch significante concentraties. Er bestaat een significant negatieve correlatie tussen de PCB- en kwikwaarden bij otters en de lichaamsconditie maar de oorzaak hiervan is onduidelijk. De PCB-waarden in verschillende zogende moederdieren die in goede conditie verkeerden waren tot 20 keer hoger dan de concentraties die het reproductiesucces in otters verminderen (1,3 ppm versgewicht).

Gochfeld (1980) meldde een abnormaal verlies van veren bij visdiefjes op Long Island in het begin van de jaren 1970. De vogels hadden significant hogere concentraties aan kwik dan de normaal bevonden visdiefjes. In 1981 vergeleek men op Long Island het reproductief succes van een visdief kolonie die blootgesteld was aan een hoge concentratie zware metalen (Providence Barge) met een kolonie die niet blootgesteld was (Wickford Tower) (Custer *et al*., 1986). Het succes om nesten te bouwen was voor beide kolonies hetzelfde, gemiddeld rond 75%. De gemiddelde groeisnelheid van de nestvogels was groter in Providence. Er trad geen verschil op in hematocriet, ALA-D, hemoglobine, plasma cholinesterase, of alanine aminotransferase tussen de nestvogels van beide kolonies, hoewel de jongen uit Providence een hogere aspartaat aminotransferase activiteit en urinezuur concentraties hadden. IJzer was het enige metaal dat in hogere concentraties werd aangetroffen in de levers van nestvogels uit Providence.

Maas (2003a) wijst op de nog steeds bestaande risico's op gezondheidseffecten voor visetende dieren, hoewel de waterkwaliteit verbeterd is, door ophoping van giftige stoffen in hun lichaam (Figuur 4.7). Metingen aan paling en driehoeksmosselen tonen dit aan. In de grote rivieren lopen visetende dieren matige risico's op gezondheidseffecten. In de Maas bijvoorbeeld treedt een oplopende trend op, die grillig van karakter is. Voor mosseletende dieren zijn de risico's in de rivieren matig tot hoog, vooral als gevolg van kwik- en cadmiumconcentraties. PCB's dragen in het algemeen het meeste bij, tot ruim 50% in de Maas. Kwik veroorzaakt in het algemeen 20-40% van het risico, maar dat kan in 'schone' watersystemen oplopen tot 75%. HCB, DDD en DDE veroorzaken 10-20% van het risico (Maas, 2003a, b). Omdat otters vrijwel alleen vis eten, krijgen ze veel giftige stoffen binnen, die in hun lichaam ophopen, en zijn ze extra kwetsbaar.

Er werd reeds vermeld dat selenium meerdere types van ontwikkelingsstoornissen veroorzaakt in vogels, zoogdieren en vissen.



Figuur 4.7: In de grote Nederlandse rivieren lopen visetende dieren matige risico's op gezondheidseffecten (Maas, 2003a).

IV.4. Potentiële effecten van gebromeerde vlamvertragers op paling

Het verwarmen en/of verbranden van producten die PBB's (polygebromeerde bifenylen), PBDE's (polygebromeerde difenylethers) of andere gebromeerde vlamvertragers bevatten, kan aanleiding geven tot de vorming van polygebromeerde dibenzo-*p*-dioxines en dibenzofuranen die gelijkaardige toxicologische effecten hebben als gechloreerde dioxines (WHO, 1998).

Literatuuronderzoek leverde slechts weinig teksten op waarin de effecten van gebromeerde vlamvertragers op paling beschreven staan. Men kan aannemen dat zij gelijkaardig zullen zijn aan de beschreven effecten op andere vissoorten, voornamelijk grote migratoren. De Wit (2000) schreef een literatuurstudie over de aanwezigheid en de effecten van gebromeerde vlamvertragers in ons milieu. De belangrijkste resultaten hieruit worden hieronder samengevat (Belpaire *et al.*, 2002).
Textiel- en plasticindustrie blijken in Zweden de voornaamste bronnen van gebromeerde vlamvertragers in het milieu te zijn. De aanwezigheid van deze stoffen werd ook in de werkomgeving (in binnenhuisstof en lucht) aangetoond. De aanwezigheid van PBDE en PBB in biotastalen van de Arctische zee (Svalbard) en de aanwezigheid van PBDE in de lucht in afgelegen gebieden zoals Zuid-Gotland en Noord-Zweden tonen aan dat er lange afstandstransport via de lucht mogelijk is. Aanwezigheid van BDE-47, -99 en -209, TBBP-A en HBCD in RWZI-slib geven aan dat deze stoffen ook aangetroffen kunnen worden in huishoudelijke bronnen of afkomstig zijn vanuit het verkeer of andere diffuse bronnen. Laag gebromeerde PBDE’s werden in lage concentraties gevonden in sediment van de Baltische Zee, maar, samen met DeBDE, in hogere concentraties ter hoogte van de riviermondingen van bepaalde Europese rivieren (verschillende rivieren uit het UK en in de Viskan rivier, Zweden). Er werd

aangetoond dat de Tees rivier in het UK zwaar verontreinigd was door PBDE, stroomafwaarts van een PBDE producerend bedrijf (Alchin *et al*., 1999).

Concentraties van BDE-47, -99 en -100 zijn laag in zoogdieren en vogels van terrestrische ecosystemen, terwijl in biota van aquatische en mariene ecosystemen (vis, vogels en zoogdieren) hogere concentraties gemeten worden. PBB en PBDE werden gevonden in vetweefsel van potvis (*Physeter macrocephalus*) in de afgelegen diepe waters van de Atlantische Oceaan (de Boer *et al*., 1998) en ook griend (*Globicephala melas* (Trail, 1809)) blijkt daar gecontamineerd te zijn door PBDE (Lindstrom *et al*., 1999). Er bestaat een spatiële trend voor BDE in biota in Noord-Europa: de hoogste concentraties worden gevonden in Nederland, gevolgd door de Baltische zee, met lagere concentraties in de Noordzee en de laagste in Noord-Zweden en de Arctische regio. Deze spatiële verschillen vertonen gelijkenissen met de distributiepatronen van PCB's en DDT. In stalen uit verontreinigde gebieden (Vättern meer, Baltische zee, Viskan rivier) komt BDE-47 het meest voor, terwijl in afvalwater, sedimenten en vis uit 'referentie'meetplaatsen het congenerenprofiel meer gelijkt op het technisch product Bromkal 70-5-DE. De hoogste concentraties van BDE-47 in Zweden worden teruggevonden in vis, gevangen in de Viskan rivier waarlangs verschillende textielindustrieën gevestigd zijn. Sedimenten van deze rivier bevatten ook DeBDE en HBCD en de vis bevat ook HBCD. Hoge concentraties van vooral BDE-47 zijn ook teruggevonden in visetende vogels en zoogdieren, mogelijks ten gevolge van bioaccumulatie en biomagnificatie omdat deze congeneer de hoogste biobeschikbaarheid vertoont. In vis uit het UK worden de hoogste concentraties van BDE-47, -99, OcBDE en DeBDE teruggevonden in riviermondingen van rivieren met fabriekszones of hoger gelegen bedrijven die gebromeerde vlamvertragers gebruiken. Ook in alpiene gebieden in Oostenrijk werden een aantal gebromeerde vlamvertragers teruggevonden, zowel in sneeuw als in vissen van alpiene meren (Krautter & Seidl, 2002; Leonards *et al*., 2002).

Lager gebromeerde PBDE, OcBDE en HBCD zijn biobeschikbaar in het sediment, zoals aangetoond door hun aanwezigheid in vis. Opname door het gastro-intestinaal stelsel van ratten, muizen en vis is hoog voor lager gebromeerde PBDE's. Hoge waarden worden ook teruggevonden in neonatale muizen en worden via de moedermelk doorgegeven. Metabolisme lijkt te resulteren in de vorming van gehydroxyleerde PBDE's. HBCD wordt ook snel opgenomen via de darm in ratten. Opname via het gastro-intestinaal stelsel van vissen is laag voor DeBDE, maar metabolische debrominatie naar lager gebromeerd PBDE kan voorkomen. BDE-47, -99 en -100 biomagnificeren in visetende vogels en zoogdieren. BDE-47, -99 en -100 wordt teruggevonden in de mens en in het bloed van zalm uit de Baltische zee. PBDE wordt teruggevonden in het menselijk vetweefsel, bloed en moedermelk. Hoger gebromeerde PBDE's, waaronder DeBDE, worden teruggevonden in menselijk vetweefsel en in bloed. De hoogste DeBDE-concentraties werden teruggevonden bij werknemers van een computer ontmantelingbedrijf. DeBDE is ook biobeschikbaar in vis (Belpaire *et al*., 2002).

Gebaseerd op waarden van PBDE in vetrijke zeevis uit de Baltische zee en op recente toxicologische studies heeft de Zweedse voedseladministratie een risico berekening voor humane consumptie naar voor gebracht. Gebaseerd op deze feiten bereikten ze een "no effect level" van 2 mg kg^{-1} lichaamsgewicht/dag (Darnerud & Thuvander, 1998).

Studies omtrent tijdsevoluties illustreren allemaal verhoogde concentraties van PBDE's in het milieu sedert de jaren 1970. Een tijdsevolutie gemeten in zeekoeten toont aan dat de waarden van BDE -47, -99 en -100 in de Baltische Zee dalen sedert de vrijwillige stopzetting van het gebruik van deze stoffen in een aantal landen, maar de waarden van HBCD blijven stijgen. De tijdsreeks voor metingen in humane moedermelk vertoont een exponentiële stijging tot ca. 1998 (met elke vijf jaar een verdubbe-

ling). De mens wordt aan deze stoffen niet alleen via het voedsel (cf. de gehaltes in snoek en zeekoet) blootgesteld maar ook door recente blootstelling aan elektronische toepassingen en textiel die gebromeerde vlamvertragers bevatten in huis- en werkomgeving. Recent Zweeds onderzoek heeft PBDE aangetoond in het bloed van kantoorbedienden die computers gebruiken, hetzelfde werd teruggevonden bij schoonmaakpersoneel in hospitalen en bij arbeiders van een ontmantelingbedrijf voor elektronica. De hoogste waarden werden in deze laatste groep aangetroffen, hetgeen de rol van elektronische toestellen in de verontreiniging illustreert (Sjödin *et al*., 1999). Ook TBBP-A werd gerapporteerd in het bloed van kantoorbedienden.

Van verschillende lagere gebromeerde PBDE's, waaronder BDE-47, -99 en -100, werd aangetoond dat ze de Ah-receptor activeren of inhiberen. Blootstelling van jonge muizen aan lage doses van PBDE bijvoorbeeld veroorzaakt permanente verstoring van gedrag, geheugen en leercapaciteit (Eriksson *et al*., 1999). PBDE verstoort bovendien het schildklierhormoon systeem in ratten en muizen, een systeem dat essentieel is bij de ontwikkeling van hersenen en lichaam (Darnerud & Thuvander, 1998; Hallgren & Darnerud, 1998).
Bromkal 70-5DE, een PBDE-product, zou via Ah-receptoren leverenzymen zoals EROD (ethoxyresorufin-*O*-diëthylase) induceren, zowel *in vitro* als *in vivo* in ratten en regenboogforellen. Daarentegen zouden BDE-47 en -99 de EROD-activiteit in de lever van regenboogforellen verlagen. Gehydroxyleerde PBDE en TBBP-A zijn sterke concurrenten voor transthyretin, het plasmaproteïne dat verantwoordelijk is voor het transport van schildklierhormonen in het plasma (Belpaire *et al.*, 2002). Ook verschillende planaire PCB-congeneren zijn in staat om de cytochroom P450A proteïnesynthese en de daaraan gerelateerde enzymactiviteit (EROD) in vissen te induceren (Andersson & Forlin, 1992). Deze observaties duiden erop dat vissen een gelijkaardige zoniet identieke aan zoogdieren en mensen, respons hebben op de Ah-receptor (Rice & Schlenk, 1995).

Gebromeerde analogen van thyroxine en triiodothyronine vertonen een interactie met de schildklierhormoon receptoren. Ratten en muizen, behandeld met Bromkal 70 5DE of BDE-47 kenden zowel een verlaagde thyroxinespiegel als veranderingen in de immunorespons. Orale toediening van BDE-47 of BDE-99 aan neonatale muizen op dag 10 induceerde permanente aberraties in het spontaan motorisch gedrag wat erger werd naarmate de dieren ouder werden. Neonatale blootstelling aan BDE-99 verstoorde eveneens de leer- en geheugenfunctie in het volwassen dier. Daarom zijn deze stoffen in staat de leverenzymproductie te beïnvloeden en hebben ze een negatieve invloed op het schildklierhormoonsysteem en induceren immunotoxiciteit. Ze veroorzaken ook neurotoxiciteit indien toegediend tijdens gevoelige periodes bij de ontwikkeling van de hersenen (Belpaire *et al.*, 2002).

PBDE, TBBP-A en HBCD zijn aanwezig in ons milieu en worden opgenomen door levende organismen terwijl de lager gebromeerde PBDE's biomagnificeren. TBBP-A en PBDE en/of hun metabolieten vertonen een biologische activiteit. De waarden van PBDE's lijken te verhogen. Vooral bij mensen blijkt deze verhoging zeer snel te gaan. Dit kan leiden tot waarden die zowel bij mens als dier effecten kunnen veroorzaken. De kennis echter over deze stoffen, hun oorsprong, hun toxiciteit en hun gedrag in het milieu is zeer beperkt. Daardoor is de risicobepaling en het vinden van oplossingen moeilijk (Belpaire *et al.*, 2002).

IV.5. Potentiële effecten van vluchtige organische componenten (VOC's) op paling

Zoals reeds eerder vermeld zijn de meest voorkomende VOC's benzeen, tolueen**,** ethylbenzeen en xyleen en de gechloreerde VOC's, chloroform en tetrachlooretheen. Er is nog niet zoveel geweten over de ecotoxicologische effecten van VOC's op paling. Ahmad *et al.* rapporteerde in 1984 dat de letale dosis van 1,2-dichloro-benzeen voor regenboogforel 1,61 mg l^{-1} is. Black *et al*. (1982) bestudeerden de gevoeligheid van de embryonale stadia van vis op 1,2-dichlorobenzeen; de letale dosis voor regenboogforel was 3,01 mg l^{-1} na een blootstellingtijd van 27 dagen.
Studies van arbeiders werkzaam in chemische industrie waar 1,2-dibromo-3-chloropropaan geproduceerd wordt vertoonden een negatief effect op de mannelijke voortplantingsorganen, een lagere spermaproductie en een mindere reproductie mogelijkheid (Belpaire & Goemans, 2007).

IV.6. Potentiële effecten van perfluoroctaansulfonaat (PFOS) op paling

Perfluoroctaansulfonaat (PFOS) is persistent, bioaccumulatief en toxisch voor zoogdieren. Het wordt goed geabsorbeerd (in mannelijke ratten werd meer dan 95% geabsorbeerd binnen 24 uur). Het bindt aan de bloedeiwitten albumine en betalipoproteïne en stapelt zich op in de lever, galblaas en serum. Transfer doorheen de placenta en naar moedermelk wordt waargenomen. PFOS wordt niet verder gemetaboliseerd. Er is een enterohepatische circulatie van PFOS met trage uitscheiding via urine en feces. De halfwaardetijd ervan verschilt van soort tot soort; 100 dagen in ratten, 200 dagen in apen en jaren in mensen (8,7 jaar). Het toxiciteitprofiel van PFOS is gelijkaardig voor ratten en apen. Herhaaldelijke blootstelling resulteert in hepatotoxiciteit en mortaliteit; de dosisrespons curve is zeer steil voor mortaliteit. Dit komt voor in dieren van alle leeftijden, hoewel pasgeborenen gevoeliger zijn. Epidemiologische studies toonden reeds een associatie aan tussen PFOS-blootstelling en de incidentie van kanker (De Bont *et al*., 2004).

PFOS-concentraties in visweefsel werden totnogtoe maar zelden onderzocht. De Voogt (2006) vermeldt dat PFOS aangetroffen wordt in vis in concentraties die variëren tussen 1 en 560 ng.g^{-1} versgewicht. Tabel 4.6 geeft een overzicht van zijn resultaten.

Tabel 4.6: PFOS-concentraties in visweefsel (De Voogt, 2006).

Herkomst	Weefsel	Soort	PFOSA	PFOS	PFOA	PFNA	Referentie
Nederland	fillet	paling	n.a.	<8-123	<2,6	n.a	De Voogt *et al*., 2003
Westerschelde	fillet	bot	n.a.	23	<2,6	n.a.	De Voogt *et al*., 2003
	fillet	schol	n.a.	<10-111	n.a.	n.a.	Hoff *et al*., 2003
Noordzee (België)	fillet	schol	n.a.	<10-39	n.a.	n.a.	Hoff *et al*., 2003
Baltische zee (Zweden)	lever	kabeljauw	0,41-6.1	6,4-62	<LOD	0,47-18	Kallenborn *et al*., 2004
Denemarken	lever	bot	3,3-15	18-21	<LOD	0.78-1,7	Kallenborn *et al*., 2004
	lever	haring	19	15	5.4	1,2	Kallenborn *et al*., 2004

Japan (Verschillende mariene wateren)	lever	verschillende soorten	n.a.	3-558	n.a.	n.a.	Taniyasu *et al*., 2003
Canada (Arctische, subarctische en zoetwaters)	lever	verschillende soorten	2-18	6-50	<2	<0,5-6,5	Martin *et al*., 2004b
Middelandse zee	lever	zwaardvis/tonijn	<38	3-87	<36<72	n.a.	Kannan *et al*., 2002

* n.a.: niet geanalyseerd

De biochemische effecten van blootstelling aan PFOS werden hoofdzakelijk bestudeerd in zoogdiersoorten waarbij PFOS aanzien werd als een inductor van peroxisomale β-oxidatie (Ikeda *et al.*, 1987; Sohlenius *et al.*, 1993) en als hypolemische agent (Haughom & Spydevold, 1992; Lau *et al*., 2001; Seacat *et al*., 2003). Ook effecten op de carboxylesterase expressie werden aangetoond (Derbel *et al*., 1996), naast effecten op de ontwikkeling (York *et al*., 2000). Bij rhesusapen en ratten werd een toegenomen alanineaminotransferase (ALT) waargenomen in het serum (Goldenthal *et al.*, 1978a, b; Seacat *et al*., 2003). Hoff *et al*. (2003) suggereerde dat PFOS interfereren met de homeostase van het DNA-metabolisme en dat ze leverschade veroorzaken bij karpers. De significante relatie tussen de leverconcentraties aan PFOS en de Cl^-, Na^{2+} en Ca^{2+}-concentraties in het serum van karper doen vermoeden dat PFOS fouten in de ionregulering veroorzaakt door het uiteen doen vallen van de membraanstructuur en/of de kieuwcellen die een sleutelrol spelen bij de osmoregulatie en de regulatie van de homeostase (Wendelaar Bonga & Lock, 1992).

Daarnaast werd aangetoond dat PFOS verscheidene effecten kunnen hebben op membraanniveau: een toenemend verlies aan protonen van het binnenste mitochondriaal membraan (Starkov & Wallace, 2002), een verhoging van de membraan vloeibaarheid in de levercellen van ratten en karpers en in rode bloedcellen van kippen (Hu *et al*., 2000) en het onderdrukken van communicatie via gap juncties tussen cellen (Hu *et al.*, 2002). PFOS hebben een amphipatische structuur en kunnen de membraanstructuur fysisch verwoesten zoals het geval is voor vele detergensachtige componenten (Schreier *et al.*, 2000).

De door PFOS geïnduceerde verstoring in de kieuwstructuur bij karper, veroorzaakt door dalende Cl^-, NaC en Ca_2C concentraties, kan leiden tot hemodilutie ten gevolge van een toegenomen wateropname door osmose (Wendelaar Bonga & Lock, 1992). In tegenstelling tot bij karpers duidt het tekort aan veranderingen in de elektrolytconcentraties in palingserum erop dat PFOS het defect van de kieuwen niet induceert.

Bij paling neemt het PFOS-geassocieerde hematocriet toe en blijkt geassocieerd met toegenomen PFOS-concentraties in de lever en geeft aanleiding tot het zwellen van de erytrocyten, het toenemen van het aantal erytrocyten en dehydratatie.

De verschillende correlatiepatronen aangetoond bij verschillende vissoorten kunnen wijzen op verschillen in PFOS toxiciteitmechanismen tussen de soorten.

Hoff *et al.* (2005) toonden aan dat de concentratie aan PFOS in vissenlever significant en positief gecorreleerd is aan de alanineaminotransferase serumactiviteit (een merker voor leverschade) en negatief gecorreleerd is met het serum proteïnegehalte in paling en karper. Het is ook gecorreleerd aan de verstoring van de ionhomeostase bij karper (duidend op schade aan de kieuwen) en aan een toegenomen hematocrietniveau in paling. Samenvattend tonen ze dus aan dat PFOS kieuw- en leverscha-

de toebrengen aan zoetwatervissen (in veldcondities). Alhoewel ook andere gemeten organohalogenen hier gedeeltelijk verantwoordelijk voor kunnen zijn. De leverconcentraties aan PFOS bleken niet significant gerelateerd te zijn aan de groei of de conditie van de vissen (Hoff. e*t al.*, 2005). Hoewel 13 organochloor pesticiden, 22 polychloorbifenyl congeneren (PCB) en 7 polybroomdifenylethers (PBDE's) getest werden in leverweefsel, werden enkel PCB28, PCB74, γ-hexachlorocyclohexaan (γ-HCH) en hexachlorobenzeen (HCB) verondersteld bij te dragen tot de geobserveerde serologische wisselingen in paling (Hoff *et al.*, 2005).

IV.6.1. PFOS in palingpredatoren

Martin *et al*. (2003a, b) zagen PFOS-accumulatie in het lichaam van dieren waarbij het bond aan de proteïnes in het bloed en dit het meest in de lever. De hoogste PFOS-waarden die ooit genoteerd zijn, is in de lever van poolberen, zeehonden en vissen die aan de top van de voedselketen staan (Martin *et al.* 2004a, b; Bossi *et al.,* 2005; Kannan *et al.,* 2005; Smithwick *et al.,* 2005; Sinclair *et al.,* 2006).

IV.7. Potentiële effecten van endocriene verstoorders op paling

De term 'endocriene verstoorders' duidt op scheikundige stoffen, zowel synthetische als natuurlijke, die in verband gebracht worden met ontwikkelings-, reproductieve en andere gezondheidsproblemen, bij zowel laboratoriumdieren als natuurlijke populaties. Alle organismen reageren immers op hun omgeving. Endocriene verstoorders zijn in staat om het delicate evenwicht van het hormoonsysteem te ontregelen. De coördinatie van deze reacties gebeurt bij mens en dier door twee systemen: het zenuwstelsel en het hormoonstelsel. Terwijl het zenuwstelsel zorgt voor een vrij snelle berichtgeving zoals de reactie op een pijnprikkel, zorgen hormonen voor een tragere overdracht van informatie maar met een langduriger effect. Ze regelen essentiële levensfuncties zoals ontwikkeling, groei, voortplanting, afweer en energiehuishouding. Het schildklierhormoon thyroxine bijvoorbeeld is nodig voor de ontwikkeling van de hersenen; adrenaline is essentieel bij de vluchtreactie; insuline voor de regulatie van de bloedsuikerspiegel en hormonen zoals testosteron en oestradiol zijn sekshormonen. Hormonen spelen eveneens een belangrijke rol tijdens het embryonale en foetale stadium bij o.a. de ontwikkeling van de seksuele kenmerken, het afweersysteem, het zenuwstelsel, de hersenen, het gedrag en de groei van de foetus (Caubergs *et al*., 1999).

Hormonen worden rechtstreeks aan de bloedbaan afgegeven. Deze endocriene secretie zorgt ervoor dat ze alle levende cellen bereiken. Daar de doelwitten over een receptor beschikken kunnen ze de boodschap van een hormoon vastleggen en doorgeven. Deze receptoren moeten in staat zijn om het juiste hormoon te onderscheiden uit miljoenen andere moleculen waaraan ze blootgesteld zijn en het verbindingssignaal overdragen naar de cel. Wanneer het endocrien systeem normaal functioneert, worden de juiste boodschappen doorgegeven aan de juiste cellen. Bij storingen worden foute signalen doorgegeven.

Endocriene verstoorders kunnen de hormonale functies op verschillende manieren beïnvloeden:

- Nabootsen van natuurlijke hormonen door te binden op exact dezelfde receptoren. Hierdoor is er een overproductie aan boodschappen of worden er op verkeerde momenten boodschappen doorgegeven.
- Blokkeren van de receptoren met als resultaat dat de natuurlijke hormonen niet meer kunnen binden. Een chemische stof die bijvoorbeeld testosteron verhindert zijn receptoren te bereiken door zelf de receptor te bereiken en de plaats de bezetten, kan een

vervrouwelijking tot gevolg hebben omdat er hierdoor niet genoeg mannelijke hormoonboodschappen doorgegeven worden.

Anti-hormonen verhinderen dus de werking van de natuurlijke hormonen door o.a. het

- stimuleren van de aanmaak van meer hormoonreceptoren.
- wijzigen of vernietigen van de natuurlijke hormonen.
- deactiveren van de enzymen die de natuurlijke hormonen moeten elimineren.
- rechtstreeks interageren in de hormoonproductie waardoor de hormoonstructuur wijzigt.
- beïnvloeden van de secretie van de hormonen en het transport doorheen het bloed.
- interageren met het gebonden hormoon met als gevolg een storing in het signaal dat door het hormoon gegeven wordt (Caubergs *et al*., 1999).

Het is zeer moeilijk om een rechtstreeks verband aan te tonen tussen waargenomen effecten en één bepaalde scheikundige stof. Het is wel aannemelijk te veronderstellen dat hormonale storingen veroorzaakt worden door een veelheid aan chemicaliën. Maar naast endocriene verstoorders spelen ook veranderingen in omgevingsfactoren zoals voedselaanbod, verstoringdruk, habitatversnippering en vernietiging eveneens een essentiële rol. Endocriene verstoorders kunnen o.a. een effect hebben op de voortplanting, de schildklier en het gedrag. Hieronder worden een aantal voorbeelden aangehaald (Caubergs *et al*., 1999).

Mannelijke vissen in Engeland bleken vitellogenine te produceren (vervrouwelijking). Dit is een levereiwit dat in normale omstandigheden enkel door de wijfjes wordt aangemaakt en dient voor de aanmaak van dooiermateriaal. Regenboogforellen dichtbij waterzuiveringsinstallaties hebben één tot 100 000 keer hogere concentraties aan vitellogenine in hun bloed dan controle vissen (Santillo *et al*., 2006).

Onderzoekers van de Guelph University in Canada hebben vastgesteld dat alle twee tot vier jaar oude zalmen die ze onderzochten in de Great Lakes een vergrote schildklier hadden. Bijna al deze zalmen hadden bovendien hermafrodiete voortplantingsorganen. De schildklier is van groot belang bij o.a. het metabolisme en de groei (bij vissen vooral de skeletgroei) (Santillo *et al*., 2006).

Er zijn meerdere inventarisatiestudies die het belang van de verspreiding van chemische stoffen met hormoonverstorende potentie aantonen voor Vlaanderen (Bayens & Goeyens, 1998; Witters *et al*., 2000, 2003). In 2003 werd door Witters *et al*. een monitoringstudie uitgevoerd met behulp van biologische testen, waarbij voor het bekken van de Boven-Schelde aangetoond werd dat er vooral in oppervlaktewaters een hoge oestrogene potentie aanwezig is, die meestal beduidend hoger is dan in rivieren in de ons omringende landen.

Het laatste decennium werd er in het buitenland heel wat onderzoek verricht naar endocriene verstoring bij vissen. Het voorkomen van seksuele verstoring blijkt wijd verspreid bij vissen, zowel in zoet- als in zeewater in Europa (Hecker *et al*., 2002; Jobling *et al*., 1998; Lye *et al*., 1997; Minier *et al*., 2000; Vethaak *et al*., 2002), in Japan (Hashimoto *et al*., 2000) en in de VS (Folmar *et al*., 2001; Munkittrick *et al*., 1998). Sommige van deze effecten staan nauw in verband met de impact van chemische endocriene verstoorders van RWZI's. Seksuele disruptie wordt gedefinieerd als een verstoring van de gonadale ontwikkeling met het voorkomen van ovotestes[9]. Bekende effecten van vervrouwelijking door RWZI-effluenten is de inductie van vitellogenine (Purdom *et al*., 1994), een verstoring van de gehalten aan seks steroïdenhormonen bij adulte en juveniele vissen (Folmar *et al*. 1996; Hecker *et al*. 2002), verstoorde gonadale ontwikkeling bij adulte en juveniele vissen (Hemming *et al*., 2001; Jobling *et al*., 2002a), een verstoring van het tijdstip van seksuele differentiatie in de vroege levensstadia

[9] Geslachtsklier waarin zowel testiculair weefsel als ovariumweefsel wordt aangetroffen.

(Rodgers-Gray *et al*., 2001) en gonadale inter-seks (gonaden met zowel vrouwelijke als mannelijke karakteristieken; Jobling *et al*., 1998). Inter-seks werd gerapporteerd in een groot aantal vissoorten over de ganse wereld (Allen *et al*.,1999; Harshbarger *et al*., 2000; Hashimoto *et al*., 2000; Jobling *et al*.,1998; Kavanagh *et al*., 2004; van Aerle *et al*., 2001). Een brede monitoringstudie naar de vervrouwelijking van vissen door RWZI-effluenten in het VK op meer dan 50 meetplaatsen heeft een hoog voorkomen van inter-seks aangetoond bij blankvoorn van locaties stroomafwaarts RWZI's (Jobling *et al*., 1998).

Ondanks hun belang is er relatief weinig geweten over het voorkomen van endocriene verstoorders en hun effecten op vissen in de Vlaamse oppervlaktewateren. Wel zijn recent ook in Vlaanderen enkele aanwijzingen gevonden voor effecten van xeno-oestrogene stoffen bij in het wild gevangen vissen, of vissen in kooi-experimenten. Versonnen *et al*. (2003) toonden bij blankvoorn een significante correlatie aan tussen polluentenaccumulatie en de biomerker voor xeno-oestrogene blootstelling: vitellogenine. Gillemot (2003) evalueerde de inductie van VTG bij in het wild gevangen giebels (*Carassius auratus gibelio*), rietvoorns (*Scardinius erythrophthalmus*) en blankvoorns en bij gekooide karpers. De effecten waren meest het uitgesproken bij de mannelijke blankvoorns met een verhoogd VTG-gehalte ten opzichte van het basale niveau voor 16 van in totaal 29 bemonsterde vissen (gecollecteerd in acht verschillende oppervlaktewaters).

De gonadenontwikkeling bij paling vindt plaats via een ambosexueel stadium waarin zowel vrouwelijke als mannelijke gameten aanwezig zijn (Grandi & Poerio, 2000). In natuurlijke omstandigheden begint paling zich te reproduceren na 6-12 jaren van juveniele groei in continentale waters. Aan het begin van hun migratie naar de Sargassozee is de Europese paling nog steeds niet volwassen. Dit komt door een tekort in de productie van hypofyse gonadotrofine (hormoon) en VTG. Tot op heden zijn er nog geen volwassen Europese palingen gevangen en dus zijn de gonadale steroïd- en VTG-waarden gedurende een natuurlijke reproductie nog steeds onbekend (Peyon *et al.,* 1997). VTG-inductie bij vissen werd reeds algemeen gebruikt om blootstelling aan xeno-oestrogene componenten te onderzoeken. Onder natuurlijke omstandigheden wordt VTG enkel geproduceerd bij volwassen vrouwtjes als voorloper van de dooier. Wanneer mannetjes of juveniele vissen echter blootgesteld worden aan xeno-oestrogenen dan kunnen ook zij dit proteïne aanmaken (Copeland *et al*., 1986; Allner *et al*., 1999; Tyler *et al*., 1998). Om deze reden wordt VTG-inductie als een goede biomerker beschouwd bij blootstelling aan componenten met oestrogene eigenschappen. Berckmans *et al*. (2007) deden onderzochten of er een meetbaar schadelijk effect is van stoffen met een oestrogeenachtige werking op natuurlijke vispopulaties. Ze besloten dat deze stoffen ingrijpende veranderingen in bloed en geslachtsorganen tot gevolg hebben bij natuurlijke vispopulaties als bijvoorbeeld blankvoorn.

IV.7.1. Effecten van endocriene verstoorders op palingpredatoren

Zoals eerder gezegd kunnen endocriene verstoorders o.a. een effect hebben op de voortplanting, de schildklier en het gedrag. Hieronder worden een aantal voorbeelden aangehaald.

(1) Effecten op de voortplanting (Santillo *et al*., 2006)

- eieren van vogels die broeden in het gebied van de Great Lakes vertonen een belangrijke verdunning van de eischaal. Hierdoor vergroot de kans dat de eischaal breekt voor de jongen zich volledig kunnen ontwikkelen in het ei.

- Tussen 1950 en 1975 was er een spectaculaire daling van het aantal zeehonden in het westelijke deel van de Waddenzee van 3000 naar 500. Dit westelijke deel is zwaar vervuild met stoffen die meegevoerd worden door de Rijn.
- In 1995 werd een achteruitgang van beluga-walvissen in Canada opgemerkt van 5000 naar 500 exemplaren. Ook hier wordt verondersteld dat vervuiling de oorzaak is van de abnormale reproductie en schildklieraandoeningen.

(2) Effecten op gedrag (Santillo *et al*., 2006)
- Lesbisch gedrag bij meeuwen en nestverwaarlozing op het eiland St. Barbara aan de kust van Californië.
- Geen interesse voor baltgedrag en paren bij volwassen exemplaren van de Amerikaanse visarend in Florida.

(3) Effecten op de schildklier (Santillo *et al*., 2006)
- Ook vogels blijken afwijkende schildklieren te hebben in het Grote Meren gebied, vooral meeuwenkolonies in de vervuilde gebieden.

IV.8. Parasieten en verontreinigende stoffen

Naast de negatieve impact van verontreinigende stoffen kunnen ook parasieten, onder bepaalde omstandigheden, de gastheer schade berokkenen. Er is nog maar slechts weinig informatie beschikbaar over de effecten van een gelijktijdige blootstelling aan polluenten en parasieten op de homeostase van organismen. Sures (2006) toonde aan dat parasieten in staat zijn om:

- het metabolisme van polluenten in gastheren te beïnvloeden
- op een synergetische of antagonistische manier te interfereren met polluenten
- fysiologische reacties uit te lokken bij de gastheer. Deze laatste worden verondersteld om geïnduceerd te worden door polluenten.

Experimentele studies over de opname en de accumulatie van metalen in vis hebben aan het licht gebracht dat vis geïnfecteerd met acanthocephali, lagere loodgehaltes bevat dan de niet geïnfecteerde gastheren; vb. *Pomphorynchus laevis* reduceert de loodconcentratie in de gal van vissen en verhindert daarbij dat lood in de lever wordt opgeslagen waardoor de hoeveelheid beschikbare metalen in de vis vermindert. Wijzigingen in de polluentenopname en accumulatie in verschillende tussengastheren en gastheren ten gevolge van parasieten, zijn dus belangrijk op het gebied van de ecotoxicologie. Daarnaast bestaat er een sterke interactie tussen de effecten van polluenten en van parasieten die gedeeltelijk op gang gebracht wordt door het endocrien systeem dat op zijn beurt sterk gecorreleerd is met het immuunsysteem. Laboratoriumstudies waarbij paling experimenteel geïnfecteerd werd met de zwemblaas nematode *Anguillicola crassus* onthulden dat toxische chemicaliën zoals PCB's immunosuppresieve effecten veroorzaken die de infectie door de parasiet vergemakkelijken. Op dezelfde manier neemt de cortisolconcentratie in het palingserum toe ten gevolge van de chemische blootstelling en is de infectie gecorreleerd aan de dalende waarden aan anti-*A. crassus* antilichamen. Voorts zijn parasieten in staat om fysiologische reacties uit te lokken die toe te schrijven zijn aan chemicaliën met endocrien verstorende eigenschappen, zo staat de cestode *Ligula intestinalis* gekend om zijn onderdrukkende werking op de gonadenontwikkeling bij blankvoorn (*Rutilus rutilus*). De beste gekende en best gedocumenteerde voorbeelden van endocriene verstoring zijn bij blankvoorn en het is voorstel-

baar dat deze verstoring niet enkel door chemische activiteit maar evengoed door parasieten als *L. instestinalis* of soorten van het *Microspora* geslacht veroorzaakt worden (Sures, 2006).

DEEL II STATISTISCHE ANALYSE VAN DE DATA VAN HET VLAAMSE PALINGPOLLUENTENMEETNET

In dit deel willen we op basis van de INBO-dataset van het palingpolluentenmeetnet nagaan in hoeverre er een relatie bestaat tussen bioaccumulatiegegevens van contaminanten gemeten in paling en de fitness van paling. Uit de literatuurstudie kwam duidelijk naar voor dat verschillende contaminanten nadelige effecten op de paling kunnen hebben. Sommige effecten werken duidelijk in op het vetmetabolisme, bijvoorbeeld door inhibitie van vetaanmaak of door een verhoogd vetverbruik als gevolg van chemische stress (deel I). Het is daarom interessant om te onderzoeken of deze observaties die meestal in laboratoriumomstandigheden uitgevoerd werden ook tot uiting komen in grootschalige veldgegevens. Veroorzaken bepaalde contaminanten een verlaging van het vetgehalte? Hebben hoge concentraties van sommige stoffen een invloed op de conditie van de vissen? Anderzijds is het interessant om na te gaan of individuele verschillen in vetgehalte een effect kunnen hebben op de gemeten gehaltes aan contaminanten.

V. Materiaal en Methode

V.1. Het conceptueel model om de relatie tussen de conditie van paling en de lichaamsvracht te bepalen

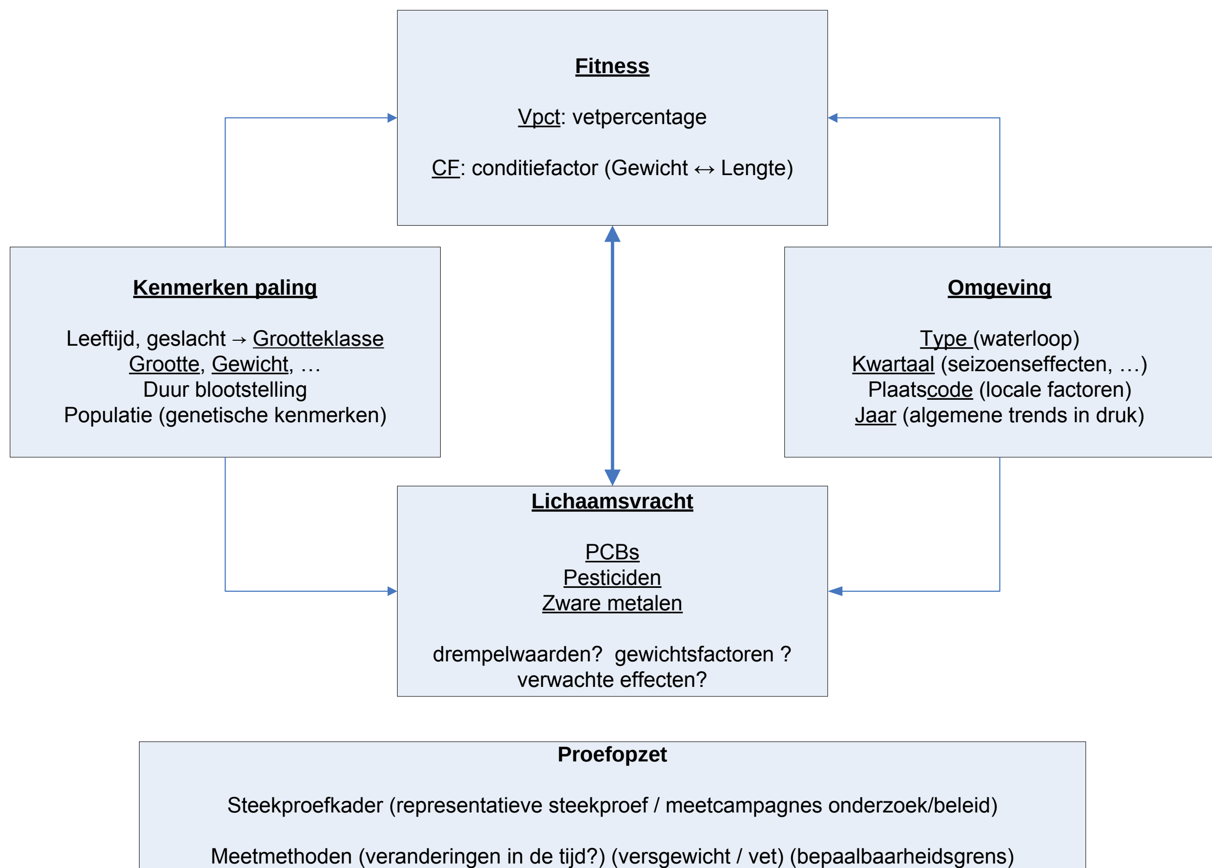
V.1.1. Voorstelling van het conceptueel model

Op basis van de INBO-dataset van het palingpolluentenmeetnet willen we nagaan in hoeverre er een relatie bestaat tussen de conditie van paling en de lichaamsvracht (body burden). Als leidraad hiervoor hebben we een conceptueel model ontwikkeld dat tevens een leidraad moet bieden voor de statistische modelbouw.

De opbouw van de dataset liet niet altijd toe om (automatische) selecties door te voeren, hetgeen cruciaal is om sensitiviteitsanalyses te kunnen uitvoeren. Bijgevolg werd een keuze gemaakt op basis van een aantal criteria om zoveel mogelijk representativiteit te garanderen en vertekening uit te sluiten. De keuzes die gemaakt werden bij de opstelling van het model zijn altijd ergens arbitrair, maar wel zoveel mogelijk transparant gemaakt. De criteria hiervoor berusten op literatuuronderzoek en expertkennis. Voor de lipofiele polluenten (PCB's en pesticiden) waren de gegevens zowel op vetbasis als op basis van het lichaamsgewicht uitgedrukt beschikbaar, terwijl die voor de zware metalen enkel op lichaamsgewichtbasis beschikbaar waren. Op basis van een verkennende analyse werd uiteindelijk besloten om te werken met de lichaamsvracht op vetbasis uitgedrukt voor de lipofiele polluenten en voor de zware metalen uiteraard met de versgewicht gegevens. We kozen voor deze benadering en omdat de resultaten logischer leken. Hierbij moet wel gemeld worden dat er op basis van de dataset alleen geen eenduidige beslissing mogelijk was.

V.1.2. Het conceptueel model

Zoals eerder vermeld wordt een conceptueel model opgesteld dat als leidraad zal dienen voor de statistische modelbouw. De opbouw van dit model wordt hier voorgesteld. Voor een bepaalde palingpopulatie (P) willen we kijken naar de invloed van de lichaamsvracht (PCB's, pesticiden, zware metalen) op de fitness van de paling. In het model stelt de fitness van paling de responsvariabele (Y) voor en de lichaamsvracht de verklarende variabele (X). Het is immers de lichaamsvracht die een invloed heeft op de fitness van de paling. De vraag rijst echter hoe we die fitness moeten uitdrukken. Gebeurt dit op basis van het gemeten vetgehalte of op basis van de conditiefactor (lengtegewicht relatie)? Welke factoren (F) spelen er nog een rol en hoe? Er zijn immers factoren die een directe impact hebben vb. plaats, graad van vervuiling, blootstellingduur … en factoren die een indirecte impact hebben vb. geslacht. Over welke populatie (P) bekijken we de effecten (beperken tot wijfjes, jaar, …)? Als we al deze gegevens samenbrengen, kunnen we volgend generiek model opstellen: $P \leftrightarrow Y \sim X \mid F$. Voor een bepaalde populatie P gaan we de invloed van de lichaamsvracht X op de fitness Y na waarbij we rekening houden met nog een aantal achtergrondfactoren F. Figuur 5.1 geeft een voorstelling van de opzet van het conceptueel model en de belangrijkste relaties tussen conditie en lichaamsvracht.



Figuur 5.1: Voorstelling van het conceptueel model met de verschillende variabelen die een invloed hebben op de conditie en de lichaamsvracht.

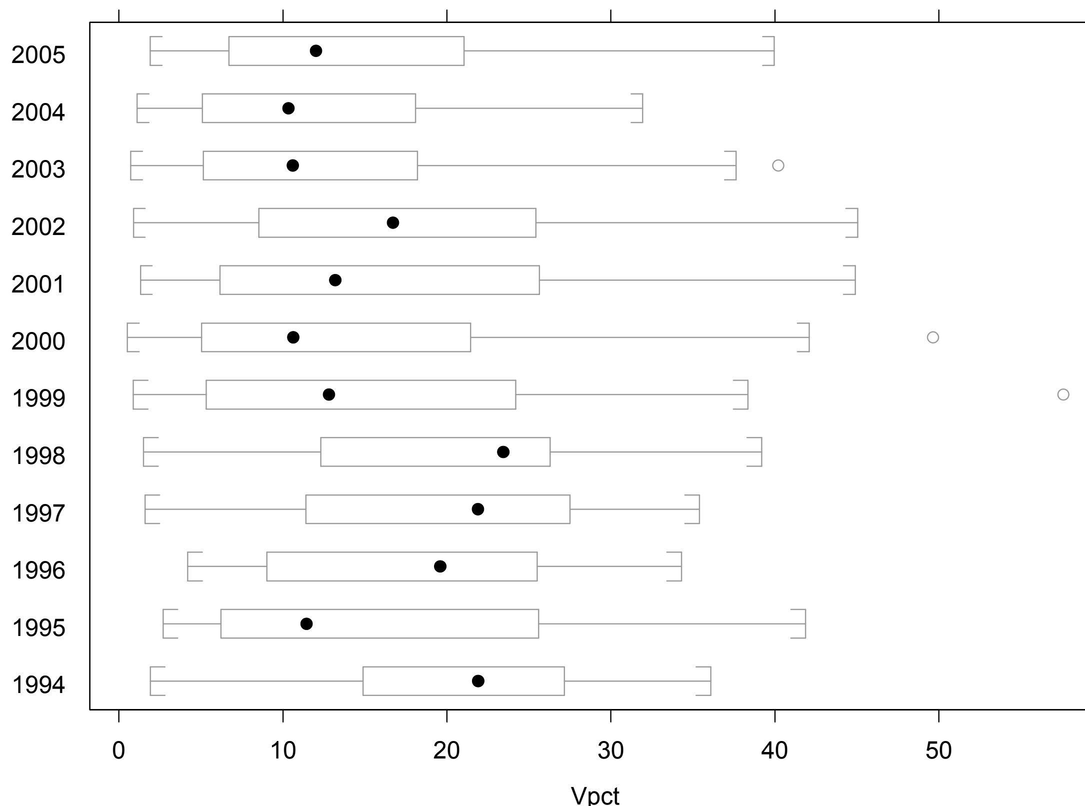
V.1.3. Hoe de fitness (Y) beschrijven?

Er zijn twee mogelijkheden om “fitness” of “conditie” uit te drukken:

(1) op basis van het vetgehalte (%).

Zeker bij lange afstand migratoren is het vetgehalte een essentiële parameter voor een normale levenscyclus. De volwassen palingen die wegtrekken naar de Sargassozee om te paaien zijn afhankelijk van de vetreserves die ze in hun opgroeifase in het zoet water opgebouwd hebben. De drempelwaarde voor een succesvolle migratie en reproductie is 20,7% vet (Van de Thillart *et al*., 2005). Er kan eventueel gewerkt worden met een binaire schaal die hoger of lager dan 20,7% vet uitdrukt.

Het gemiddelde vetpercentage (berekend over de hele dataset) van de Vlaamse gele paling bedraagt 15,1% (± 10,1). Dit wil zeggen dat Vlaamse paling niet in staat zou zijn om hun transoceanische migratie te beëindigen met voldoende vetreserves. We zien ook dat het vetpercentage in de loop van de jaren is afgenomen (Figuur 5.2). Laat het duidelijk zijn dat de onderzochte gele palingen echter nog niet klaar zijn om aan hun migratie te beginnen, ze moeten eerst transformeren tot schieraal voor zij vertrekken naar de paaigronden.



Figuur 5.2: De boxplots van het vetpercentage van 1994 tot 2005 in Vlaamse gele paling. Aangeduid zijn mediaan en 5, 25, 75 en 95 percentielen. De respectievelijke gemiddelde vetpercentages en hun standaard deviatie worden in de tabel weergegeven.

Jaar	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005
Vet (%)	21,1	15,2	19,1	19,7	20,2	15,3	13,7	15,7	17,1	12,7	12,4	14,6
St. dev.	8,64	11,4	9,47	9,49	9,31	11,4	10,2	10,5	9,71	9,2	8,82	9,05

(2) op basis van de conditiefactor (afhankelijk van de groeiwijze).

De conditiefactor drukt uit in hoeverre er ondergewicht is bij een bepaalde lengte, het is een maat voor de visconditie. Als de vis te dik of te mager is voor zijn lengte kan dit te wijten zijn aan een aantal factoren waaronder bijvoorbeeld beperkt voedselaanbod, te hoge/lage densiteit, slechte milieuomstandigheden,…

Ook hier rijzen nog vragen. Een te lage conditiefactor kan nefast zijn maar kan die ook te hoog zijn? Kent paling een allometrische of isometrische groeiwijze? Hiervoor moet de relatie tussen log(Gewicht) en log(Lengte) onderzocht worden.

In de literatuur worden verschillende conditiefactoren gedefinieerd:

- Fulton conditiefactor (Lager, 1956): CF= $100*(G/L^3)$ waarbij G= lichaamsgewicht (g) en L= palinglengte (cm); de factor 100 wordt gebruikt om de conditiefactor tot een eenheid te brengen.
- Relatieve conditiefactor geïntroduceerd door Le Cren (1951) waarbij er gecompenseerd wordt voor vormveranderingen of conditieveranderingen bij een toenemende lengte en die

dus voor een individu de afwijking van een gemiddeld gewicht voor een bepaalde lengte meet: CF_{rel}= (G/G')= G/aL^b waarbij G= geobserveerd gewicht (g) en G'= gemiddeld gewicht voor die specifieke lengte.

- Gemiddelde conditiefactor wordt berekend uit lengtegewicht verhoudingen en geeft de gemiddelde conditiefactor bij een bepaalde lengte: CF= 100*aL^{b-3} (Froese, 2006) waarbij L= lengte (cm) en b= regressiecoëfficiënt in de log-schaal.

Voor deze analyse gebruiken wij het model van Le Cren. Voor het opstellen van de conditiefactor (CF) zijn lengte en gewicht t.o.v. elkaar geplot en gemodelleerd in de log-schaal (Figuur 5.3). We delen het gewicht door zijn schatting voor deze lengte. Dit levert onderstaande vergelijking op waarbij er geen relatie meer bestaat tussen de CF en de lengte (p= 0).

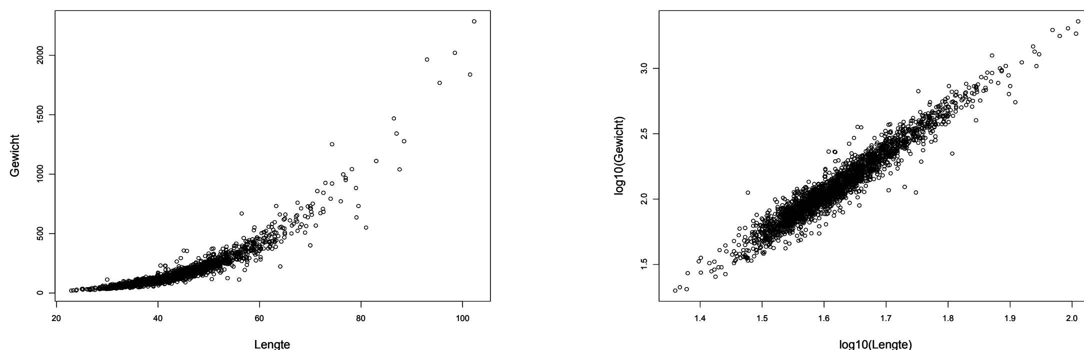
$$CF = \frac{G}{\hat{G}} = \frac{G}{\alpha L^{\chi}} = \frac{G}{0.0009L^{3.18}}$$

waarbij G= Gewicht; Ĝ = gemiddelde gewicht; α = 0,0009 en b= 3,18 en L = Lengte.

Voor het berekenen van de conditiefactor kijk je dus naar het gewicht voor een bepaalde lengte. De lengte van een paling beïnvloedt immers zowel het gewicht als het vetpercentage. Het is logisch dat een paling die groeit ook zwaarder zal worden. De conditiefactor mag evenwel niet vergeleken worden met het vetpercentage omdat bij het vetpercentage nog niet gecorrigeerd werd voor de lengte. Beter zou dus zijn om een vetfactor te definiëren.

De globale trend tussen de CF en het vetgehalte is positief: hoe hoger het vetpercentage, hoe hoger de CF. Dit is een logisch verband. Tesch (1968) schreef reeds over de conditiefactor dat die gebruikt wordt voor het vergelijken van de "conditie", of het "welzijn" van de vis en gebaseerd is op de assumptie dat zwaardere vissen van een bepaalde lengte in een betere conditie verkeren (Froese, 2006).

Bij het opstellen van het statistisch model moet er voor het vetgehalte gecorrigeerd worden voor de lengte maar evengoed voor andere factoren zoals type, bekken, trend, … De conditiefactor wordt loggetransformeerd om de variantie te stabiliseren en de verdeling van de waarnemingen meer normaal te maken. Het vetgehalte wordt via een hoektransformatie ($Arc\sin\sqrt{Vpct}$) genormaliseerd (V.3 Bespreking van de termen van het conceptuele model).



Figuur 5.3: Voor het opstellen van de CF zijn lengte en gewicht t.o.v. elkaar geplot en gemodelleerd in de log-schaal.

V.1.4. Hoe de vuilvracht (body burden) (X) beschrijven?

Hoe drukken we de concentratie vervuiling in het lichaam goed uit? Doen we dit t.o.v. het vetgehalte (% vet), t.o.v. het versgewicht (% vers = % vet * vetgehalte) of t.o.v. de totale hoeveelheid in het lichaam (% vers * gewicht)? Hoe berekenen we de totale vervuiling? Werken we met de CBsom (som van de zeven merker PCB's), met een gewogen som ~ schadelijkheid t.o.v. een referentiewaarde (wettelijke norm, vijf percentielwaarde uit de steekproef), de som van ranks (d.i. een globale relatieve score), met PCB-congeneren afzonderlijk (teveel detail maar mogelijkheid om te focussen op de meest toxische)?

Een grafische verkenning levert alvast tegenstrijdige resultaten op: er is een negatief verband tussen PCB_{vet} en het vetgehalte terwijl er een positief verband blijkt te bestaan tussen PCB_{vers} en het vetgehalte (Figuur 5.4). Verschillende hypotheses kunnen de verbanden tussen vuilvracht en vet verklaren:

Hypothese 1: PCB's hebben een negatieve impact op de vetopslag bij de paling, fysiologisch of via stress. Hoe meer PCB's hoe minder vet de paling wordt en hoe lager zijn conditiefactor zal zijn.

Hypothese 2: Hoe meer voedsel een paling opneemt, hoe meer PCB's hij binnen krijgt. Een goed doorvoede paling zal vetter zijn en een hogere CF hebben. Hoe hoger het vetgehalte, hoe meer PCB's in zijn lichaam.

Hypothese 3: Palingen van een bepaalde site krijgen allemaal evenveel PCB's binnen. Er is een natuurlijke variatie in vetgehaltes tussen de individuen van een bepaalde site. Het vetgehalte wordt niet beïnvloed door PCB's. Hoe lager hun vetgehalte hoe hoger de PCB-concentraties op vetbasis zullen zijn.

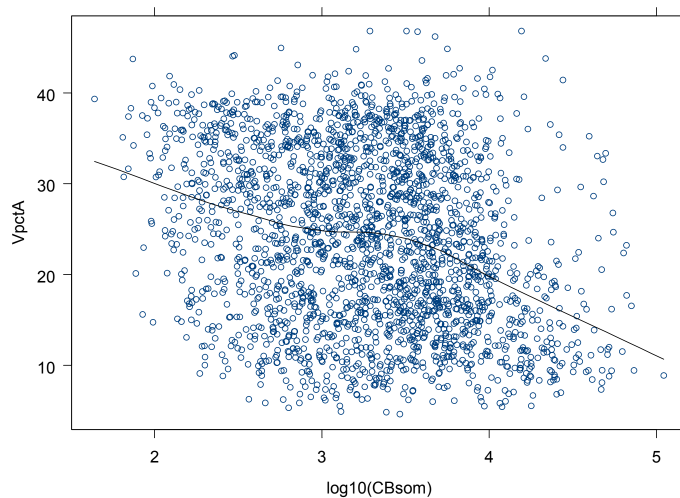
Elk van deze hypothesen kan ondersteund worden door Figuur 5.4 en het is dan ook niet haalbaar hierover uitsluitsel te geven. Hoogstwaarschijnlijk zijn de verbanden ook complexer en werken ze synergetisch. Bovendien zijn beide modellen wiskundig met elkaar verbonden (zie onderstaande formules).

$$PCB_{vers} = \frac{PCB}{versG} = \frac{PCB}{vetG} . \frac{vetG}{versG} = PCB_{vet}.Vpct$$
$$\log_{10}(PCB_{vers}) = \log_{10}(PCB_{vet}) + \log_{10}(Vpct)$$

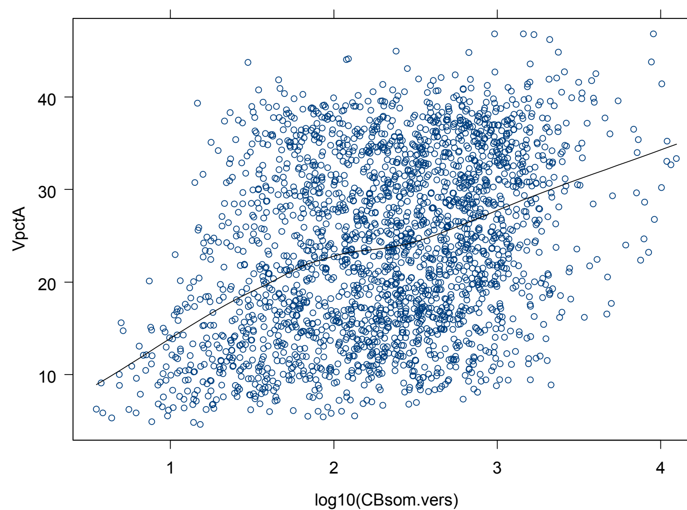
$$\beta_{2;0} + \beta_{2;1}\log_{10}(PCB_{vet})$$
$$\Updownarrow$$
$$\beta_{2;0} - \beta_{2;1}\log_{10}(Vpct) + \beta_{2;1}\log_{10}(PCB_{vers})$$

$$\beta_{1;0} + \beta_{1;1}\log_{10}(PCB_{vet})$$
$$\Updownarrow$$
$$\beta_{1;0} + \beta_{1;1}\log_{10}(Vpct) + \beta_{1;1}\log_{10}(PCB_{vers})$$

De vuilvracht kan dus uitgedrukt worden in zowel verswicht verhouding als op basis van het vetgehalte. Het is evenwel belangrijk om één spoor consequent te volgen. Wij verkiezen het spoor van PCB_{vet} omdat we het logischer vinden dat naarmate de lichaamsvracht toeneemt, de conditie afneemt. Maar dit is geen bewijs. Het is wel belangrijk om te weten hoe de meting gebeurde. Deze houdt in eerste instantie een vetextractie in dat wil zeggen dat het vet samen met de contaminanten uit het spierweefsel gehaald wordt. Dit kan heel nauwkeurig gebeuren (nauwkeurigheid van < 1%, uitzonderlijk tot 2%; K. Parmentiers, pers. comm.). De vetbepaling gebeurt in serie (na de extractie en niet tegelijk). Normaal wordt ca. 10 g palingweefsel genomen, het vet geëxtraheerd en het extract ingedampt in een getarreerde erlenmeyer. In het extract wordt vet van analyt gescheiden waarna deze laatste wordt gekwantificeerd d.i. het netto vet in de erlenmeyer gedeeld door het versgewicht levert de vetconcentratie. Daar is de onzekerheid veel groter. Bij palingen zijn de concentraties vrij hoog maar de manipulaties talrijk en afwijkingen tussen 5-10% geen uitzondering. Voor heel lage concentraties kunnen die afwijkingen oplopen tot 20-30%. Dat is tevens de marge die typisch in ringtesten gegeven wordt om een resultaat aanvaardbaar te noemen (K. Parmentier, pers. comm.). Eenmaal de vetconcentratie berekend, doseer je en bekomt bijgevolg de concentratie op vetbasis. Door deze concentratie op vetbasis te vermenigvuldigen met de vetfractie, bekom je de concentratie op versgewicht. Om het versgewicht te bepalen moet het vetpercentage gekend zijn zodat fouten in het vetpercentage accumuleren in het versgewicht. Gezien de vuilvracht gedoseerd wordt op vetbasis en de concentratie vuilvracht op versgewicht basis een afgeleide berekening is, verkiezen we te werken met de vuilvracht op basis van het vetgewicht (uitgedrukt als PCB_{vet}).



a



b

Figuur 5.4: (a) Relatie tussen de vetconcentratie van individuele palingen en de PCB-concentratie uitgedrukt op vetbasis (b) Relatie tussen de vetconcentratie van individuele palingen en de PCB-concentratie uitgedrukt op versgewicht.

V.1.5. Hoe de invloed van externe factoren beschrijven?

In het conceptueel werd er reeds aangehaald dat er buiten de lichaamsvracht nog verschillende andere factoren een rol spelen. Hieronder worden de voornaamste factoren die een directe of indirecte impact hebben kort besproken.

- Drukfactoren

De plaats waarvan paling afkomstig is, kan een belangrijke rol spelen. De vervuiling is immers sterk afhankelijk van de meetplaats met zijn specifieke vervuilingdruk. Anderzijds is bekend dat ook de typologie van de meetplaats de fitness van de paling kan beïnvloeden (Piatek, 1970). Het is dus belangrijk om rekening te houden met het bekken, het type waterloop (afgesloten waters; stromende waters,

kanalen, polderwaterlopen) en het segment in de waterloop (homogeen). In de databank zit geen systematische informatie over de verandering in de vervuilingsgraad. De vervuilingsgraad kan een tijdstrend vertonen, zij kan bijvoorbeeld van jaar tot jaar fluctueren. Misschien zijn er zelfs seizoensgebonden fluctuaties mogelijk?

- Kenmerken paling

Het is ook belangrijk om een aantal eigenschappen van de paling zelf in beschouwing te nemen. De leeftijd van de vis kan een invloed hebben op de accumulatie van verontreinigende stoffen, het metabolisme kan verschillen. Daar noch de leeftijd van de beschouwde palingen noch de blootstellingduur, die in principe een betere maat is, bekend zijn, kan er eventueel met lengteklassen gewerkt worden.
Afhankelijk van het geslacht kan het metabolisme verschillen. Er treedt pas geslachtsdifferentiatie op vanaf een bepaalde leeftijd; intersexen komen voor. De grenswaarde voor vrouwtjes is 46 cm; tussen 35 en 46 cm komen beide geslachten voor (Poole & Reynolds, 1996; Tesch, 2003). De grootte van de paling kan een indicatie zijn voor de leeftijd of het geslacht.

- Populatie

Een goede afgrenzing van de populatie is cruciaal bij statistische modelbouw. Soms is het beter te werken met minder waarnemingen en wordt dit ruimschoots gecorrigeerd doordat er gewerkt kan worden met een meer homogene groep. De populatie kan beperkt worden tot enkel vrouwtjes (> 46 cm) of kan opgesplitst worden in categorieën vb. drie (< 41 cm; 41-46 en > 46 cm). Een andere belangrijke voorwaarde is dat de steekproef consistent moet zijn. In deze databank kunnen vb. de metingen in het meer van Weerde de steekproef scheeftrekken omwille van hun grote aantallen. Desnoods moet deze groep afgesplitst worden en apart geanalyseerd.

V.2. De beschikbare data

De steekproef die gebruikt wordt in deze analyse is gebaseerd op gegevens uit de Vlaamse palingpolluentendatabank van het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek. Er moest wel aan een aantal criteria voldaan worden om te komen tot een consistente steekproef:

(1) geen ontbrekende waarden voor PCB's en vet. Hierdoor vallen bijna alle waarnemingen voor 1994 weg.

(2) Specifieke meetcampagnes met heel veel observaties worden niet in de steekproef opgenomen. Ze kunnen later eventueel apart bekeken worden ter evaluatie. Zo werden bijvoorbeeld de data van de polluentanalyses van paling van de zandwinningsput van Weerde niet in de analyse meegenomen. Het betreft immers een specifiek onderzoek (dus een niet representatieve steekproefname) met heel veel waarnemingen. Dit kan gevaar opleveren voor vertekening en daarenboven – samenhangend met het specifiek onderzoek – betreft het een heel sterk vervuild gebied.

(3) Fouten werden opgespoord en verbeterd. Bijvoorbeeld een uitzonderlijk hoge conditiefactor wijst op een verkeerd lengte- of gewichtsgegeven.

(4) Bepaalde outliers werden geëlimineerd.

In de definitieve steekproef waarop het statistisch model gebaseerd wordt, zitten gegevens over 2400 palingen afkomstig van 356 meetplaatsen. Het aantal locaties die per jaar bemonsterd werd, is niet hetzelfde over de jaren heen maar varieert tussen 6 in 1995 en 143 locaties in 2000 waardoor ook het aantal bruikbare gegevens per jaar danig verschilt. Wanneer we ons willen beperken tot de wijfjes, wordt de steekproef een heel stuk kleiner omdat het aandeel aan wijfjes (> 46 cm) beperkt is.

Hieronder wordt een overzicht gegeven van de verontreinigende stoffen die in de steekproef worden opgenomen:

- PCBs
  - 28, 31 (28 + 31), 52, 101, 105, 118, 138, 153, 156, 180
  - CBsom (d.i. som van de zeven merker PCB's) = meest courante (onderlijnd)
- Pesticiden
  - HCHA, HCHG, HCB, TNONA
  - *pp*'-DDD, *pp*'-DDT, *pp*'-DDE → DDTsom
  - Dieldrin
- Zware metalen
  - Vanaf 1994: Cd, Hg, Pb
  - Vanaf 2000:Cu, Zn, Ni, Cr en beperkt Ar en Se
  - Vanaf 2002 courant: As, Se

V.3. Bespreking van de termen van het conceptuele model

Een relatie tussen twee variabelen kan liggen aan een derde variabele die beide beïnvloedt. Hierdoor kunnen we ten onrechte een causaal verband leggen tussen twee variabelen. Stel bijvoorbeeld dat een type waterloop ongunstig is voor paling en zich dat uit in een verminderde conditie en dat in die waterloop een onschadelijke stof meer voorkomt dan elders. Deze onschadelijke stof zullen we dan ten onrechte in verband brengen met de verminderde conditie, tenzij we type ook in het model opnemen. Daarom is de eerste stap in de analyse het opstellen van een basismodel dat een aantal basispatronen beschrijft zoals trends, verschillen tussen types, fluctuaties in lengte.

Het lineair basismodel krijgt volgende vorm Y ~ C + X waarbij:

- response variabele (Y): fitness (vet percentage of conditiefactor)
- confounders (C): palinglengte– waterlooptype – jaar - staalnamedatum
- lichaamsvracht (X): PCB's (concentraties op vetbasis) – pesticiden (concentraties op vetbasis) – zware metalen (concentraties op basis van het versgewicht).

Eenmaal het basismodel gekozen, moet er gecontroleerd worden op mogelijke confounders d.i. storende factoren en moeten nog een aantal vragen beantwoord worden. Hoe delen we de dataset in? Werken we met palinglengte of een indeling in lengteklassen, met waterlooptype maar welke classificaties, met jaarklassen of jaar, nemen we maanden of seizoenen in beschouwing? Uiteraard dient ook het effect van de vervuiling (lichaamsvracht) t.o.v. het basismodel nagegaan te worden. Het statistisch model dat opgesteld wordt, zal dus bestaan uit drie grote delen:

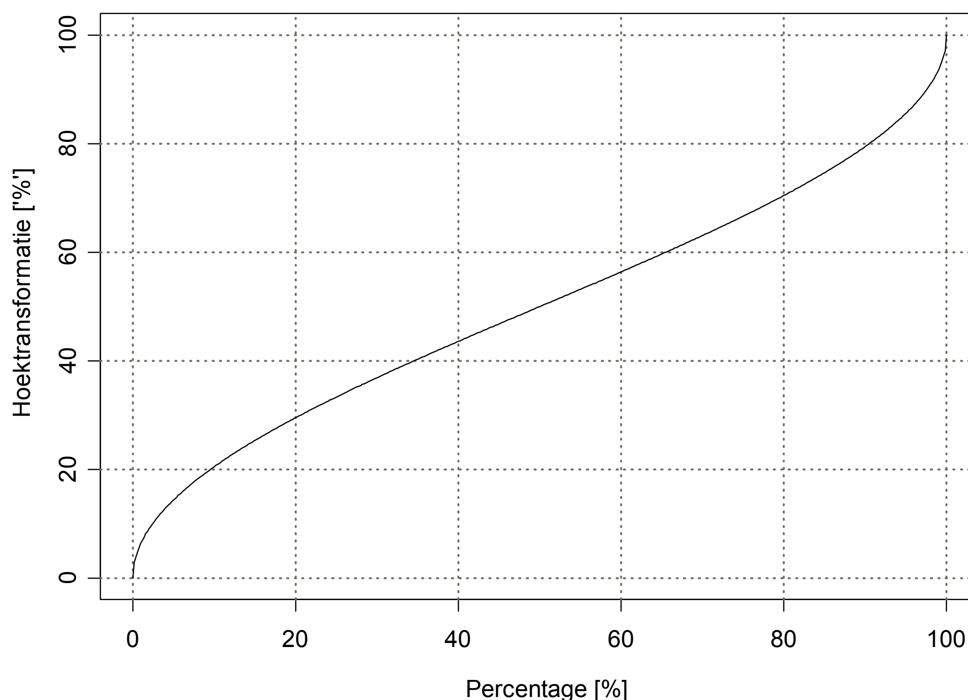
(1) structureel gedeelte: VpctA ~ Lengte + TypeS + Year3 + logCBsom

- Vetpercentage ("Vpct"): als indicator voor fitness. Percentages hebben geen goede statistische eigenschappen dus wordt VpctA gehanteerd d.i. het vetpercentage na hoektransformatie ($VpctA = 100 * \frac{2}{\pi} \arcsin \sqrt{Vpct}$) om de gegevens te normaliseren. Figuur 5.5 geeft de relatie weer tussen vet en VpctA. Wat je ziet is dat de kleine (nabij 0%) en grote waarden (nabij 100%) opgewaardeerd worden zodat de variantie gestabiliseerd wordt.

- Lengte (“Lengte”): In de analyse worden alle lengteklassen samen genomen en wordt er niet beperkt tot de wijfjes (> 46 cm). Een PCA-analyse toont immers geen wezenlijke verschillen tussen de lengteklassen (zie verder).
- Periode (“Year3”): d.i. de tijdstrend in drie perioden onderverdeeld: periode 1: 1994-99 (referentie), periode 2: 2000-2002 en periode 3: 2003-2005.
- Waterlooptype (“TypeS”): stilstaand (referentie), kanaal, polder en rivier.
- Lichaamsvracht (“logCBsom”): invloed van de lichaamsvracht (logschaal). Het betreft hier de logaritme van de som van de zeven indicator PCB’s (zie hoger), uitgedrukt op vetbasis.

(2) random effects: geeft de impact van de locatie op de regressie weer vb. voedselaanbod, stress, habitat, …
- random intercept: locale verhoging of verlaging
- random slope: fluctuatie op de regressiecoëfficiënt

(3) ruis: individuele biologische variatie, hier van de individuele palingen en de meetfout. Binnen één locatie bestaan er immers ook individuele verschillen tussen palingen die niet te wijten kunnen zijn aan een verschil in milieudruk maar het gevolg zijn van individuele variatie in ecologische of fysiologische eigenschappen.

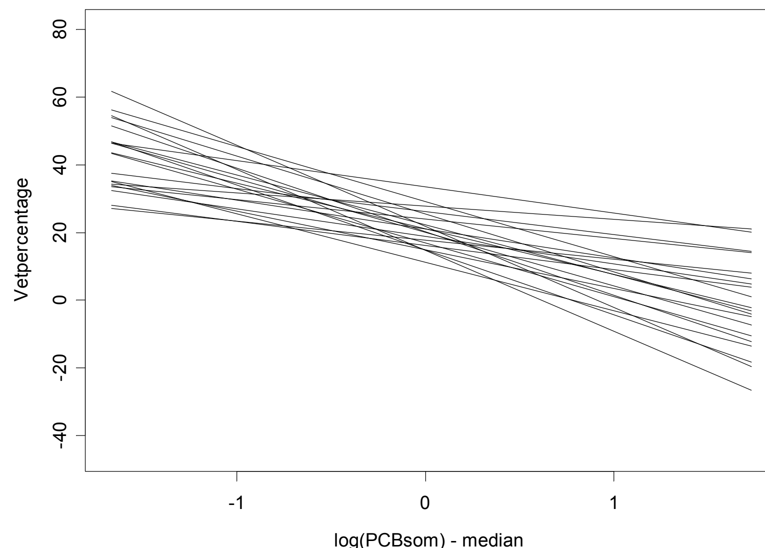


Figuur 5.5: De relatie tussen vet (Percentage [%] en het getransformeerde vetpercentage (Hoektranfsormatie [%]).

V.4. Mixed models

Nu we (zoveel mogelijk) rekening gehouden hebben met de achtergrondfactoren, kunnen we nagaan in hoeverre de lichaamsvracht een rol speelt om het verschil in vet te verklaren. Hiervoor moeten de data groter zijn dan de detectielimiet en moet er getrimd (0,01) worden om de extremen weg te filteren d.w.z. de extremen afzwakken zodat ze geen al te grote impact hebben, maar toch nog een invloed hebben. Een andere politiek zou zijn de extremen eruit te gooien, maar dan gooi je het kind met het badwater weg. Twee methoden kunnen hiervoor gehanteerd worden (1) mixed models waarbij elke polluent t.o.v. het basismodel toegevoegd wordt en de coëfficiënt nagegaan wordt en (2) plotten met gestandaardiseerde residu's van het basismodel t.o.v. de polluenten.

Locale factoren kunnen ook een invloed hebben op de relatie tussen vuilvracht en fitness. Als we dat uitdrukken onder de vorm van een lineaire regressie krijgen we een veelheid aan regressierechten (Figuur 5.6). Om de impact van PCB's na te gaan wordt er gemodelleerd met mixed models met een "random slope". Het mixed effect model laat toe dat het verband tussen PCB en vetpercentage lokaal varieert door lokale factoren zonder dat we hoeven te weten waarom. Het is een soort ruis op de coëfficiënten. Het grote voordeel is dat we hierdoor lokale factoren kunnen meenemen in het model zonder ze te expliciteren en hierdoor hebben we bij van spreken onze handen vrij om ons te concentreren op het hoofdeffect.



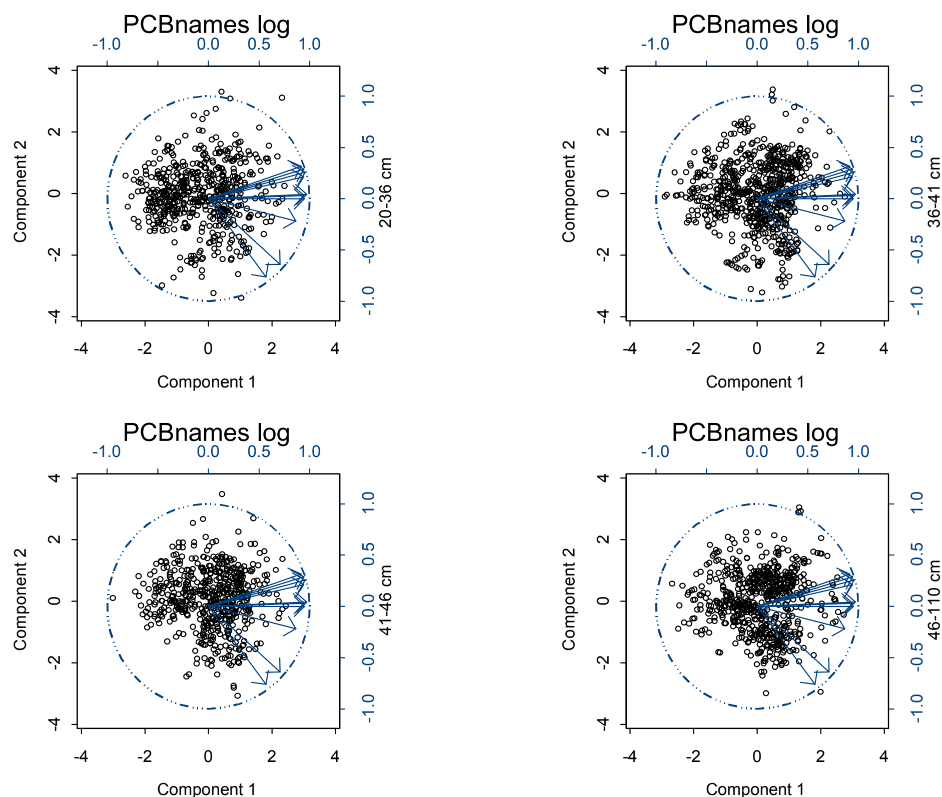
Figuur 5.6: Locale factoren kunnen een invloed hebben op de relatie tussen vuilvracht en fitness. Uitgedrukt onder de vorm van een lineaire regressie krijgen we een veelheid aan regressierechten Hier weergegeven voor een beperkt aantal locaties.

VI. Resultaten en bespreking

VI.1. Verkennende analyse

VI.1.1. Principaal Component Analyse

Een verkennende PCA-analyse waarbij de dataset in lengteklassen onderverdeeld wordt, geeft een heel homogene verdeling (Figuur 6.1). De “pijlen” (Figuur 6.1) liggen min of meer gelijk, wat betekent dat de relaties tussen de variabelen gelijk zijn en het profiel van de PCB’s weinig gerelateerd is met de lengte (alle figuren vertonen eenzelfde patroon). Er is wel een verschuiving maar die is minder essentieel. Alle lengteklassen mogen dus samengenomen worden. In de verdere analyse werken we dus met de volledige dataset en worden de wijfjes niet apart bekeken.

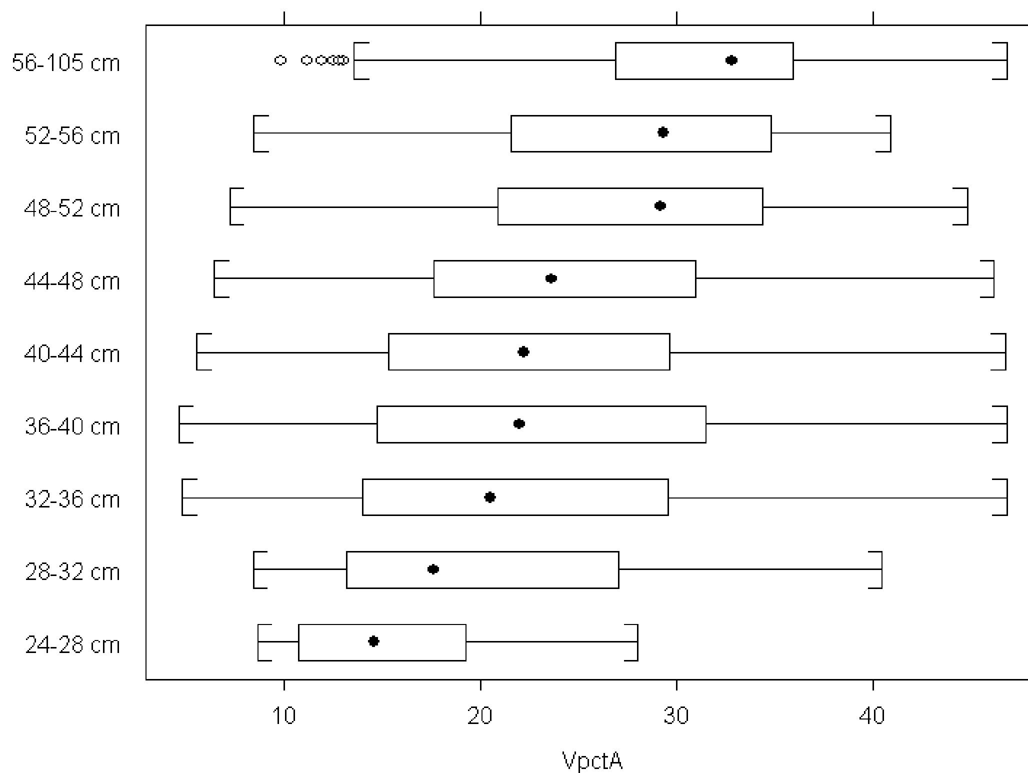


Figuur 6.1: PCA-analyse voor de dataset die per lengteklasse opgesplitst wordt. Er zijn geen wezenlijke verschillen tussen de lengteklassen. Het profiel van de PCB’s is weinig gerelateerd met de lengte (alle figuren vertonen eenzelfde patroon), er is wel lichte verschuiving.

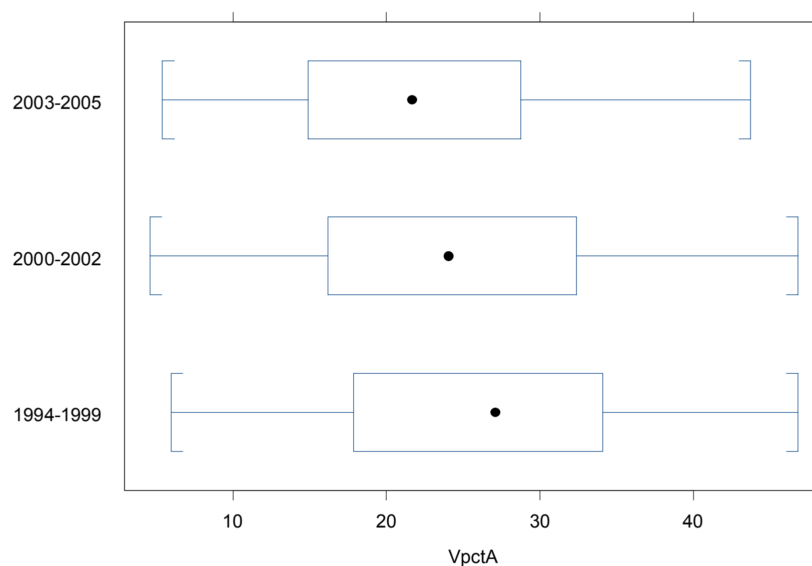
VI.1.2. Invloed van de verschillende factoren op het vetgehalte

Via een verkennende analyse krijgen we zicht op de invloed van de verschillende factoren op het (hoekgetransformeerde) vetgehalte in paling. Een grafische verkenning laat een haast lineaire impact

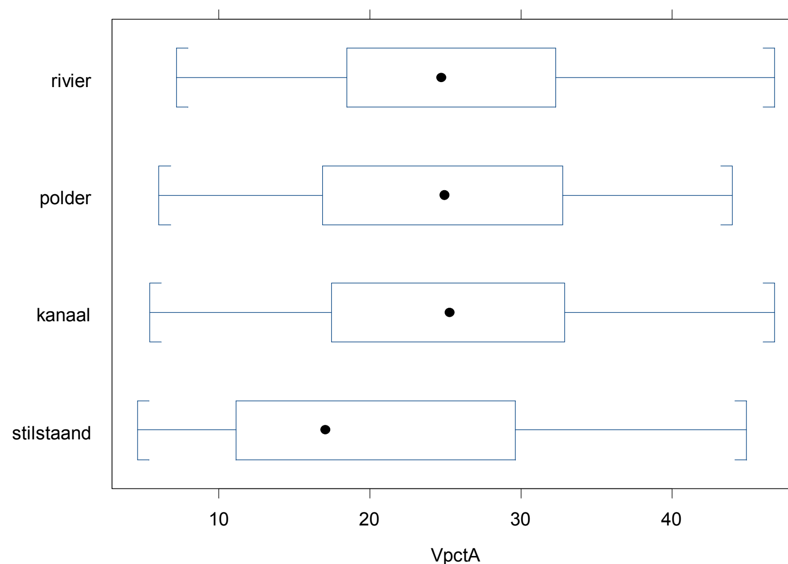
zien van de lengte (indeling in lengteklassen van 4 cm) op het vetpercentage (Figuur 6.2a), een afname in de tijd d.i. negatieve trend van het vetgehalte over de jaren voor periode (Figuur 6.2b) en geeft een impact van type op het vetpercentage weer. Stilstaande wateren hebben een lager vetgehalte dan polders, rivieren en kanalen (Figuur 6.2c). Seizoenaal bekeken lijkt de zomer een iets lager vetgehalte te hebben (niet weergegeven omdat niet relevant, zie verder).



a



b



c

Figuur 6.2: Boxplot van het hoekgetransformeerde vetpercentage (VpctA) versus (a) de lengte onderverdeeld in lengteklassen van 4 cm, (b) de periode en (c) het waterlooptype. De weergegeven waarden zijn respectievelijk minimum, 1e kwartiel, mediaan, 3e kwartiel en maximum.

VI.2. Het basismodel

VI.2.1. Het model

Met bovenstaande resultaten in het achterhoofd, wordt het basismodel als volgt opgesteld:

VpctA ~ Lengte + Year3 + TypeS + DatumQ | Code

waarbij het getransformeerde vetpercentage (VpctA) voorgesteld wordt in functie van de lengte (Lengte), de periode (jaarklasse) waarin de staalname plaatsvond (Year3) en het waterlooptype (TypeS). Voor elke parameter afzonderlijk werd getest in hoeverre hij een invloed heeft op het vetpercentage en of de weergave op de juiste manier gebeurt. Met weergave bedoelen we of bijvoorbeeld de lengte als continue data of als grootteklassen moet opgenomen worden. Er wordt gewerkt met de volledige steekproef zoals beschreven in V.2. Bij de interpretatie moet men ermee rekening houden dat waarnemingen van eenzelfde locatie gecorreleerd zijn.

VI.2.2. De ANOVA-tabel

Uit de resultaten van die analyse (ANOVA) komen volgende zaken naar voor die opgenomen worden in het basismodel. Let er bij de interpretaties steeds op dat het gaat over een model!

ANOVA (test significantie termen)

	numDF	denDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	2038	6892	<.0001
Lengte	1	2038	298	<.0001
Year3	2	2038	20	<.0001

```
 TypeS     3   352       23  <.0001
DatumQ     3  2038        1   0.365
```

De termen Lengte, Year3 en TypeS zijn significant en hebben dus een invloed op het vetpercentage. Zij worden in het model opgenomen. DatumQ (maand) heeft geen significante invloed op het vetpercentage (p= 0,365) en wordt bijgevolg uit de analyse gelaten. Het waargenomen verband zou te maken kunnen hebben met het feit dat bepaalde (waterloop)types in een bepaalde periode bemonsterd werden.

De invloed van seizoen is niet opgenomen in het model, is ook niet significant ondanks het feit dat de eerste verkennende analyse wel het signaal gaf dat het belangrijk kon zijn. De vermoedelijke reden hiervoor is dat naargelang het moment in het jaar er andere types waterlopen bemonsterd zijn en type een belangrijke invloed heeft. En één keer type in het model opgenomen is, is seizoen niet meer significant. Dit is een typisch voorbeeld van “confounding” en ook de reden waarom seizoen niet verder behandeld wordt.

VI.2.3. Discussie van de termen

Hieronder worden de verschillende termen die in het model opgenomen zijn kort besproken. De tabel geeft de geschatte coëfficiënten weer.

```
  Fixed effects:
                 lower   est.    upper
   (Intercept)  23.458  24.878  26.297
      Lengte50  0.305    0.346   0.387
   TypeSkanaal  3.566    5.121   6.676
   TypeSrivier  4.040    5.580   7.120
   TypeSpolder  4.326    6.441   8.556
Year32000-2002  -3.405   -2.239  -1.072
Year32003-2005  -5.757   -4.523  -3.290

Random Effects:
   Level: Code
                 lower est. upper
 sd((Intercept))  3.76 4.26  4.82

  Within-group standard error:
  lower est. upper
   7.49 7.72  7.96
```

- **palinglengte** wordt het best uitgedrukt als continue data en heeft een significant positief effect op het vetpercentage (ANOVA-tabel p< 0,0001). Het verband is positief en nagenoeg lineair. Er moet niet geëxtrapoleerd worden want 95% van de data liggen tussen 30 en 65 cm. Per 10 cm is er een vettoename van +3,5% (tabel Fixed effects).

- **jaar** wordt ingedeeld in drie jaarklassen: 1994-1999 (referentie); 2000-2002 en 2003-2005. Er wordt gewerkt met jaargroepen eerder dan met continue data omdat er niet tijdens alle jaren even intensief bemonsterd werd. Er bestaat een significant negatief effect van Year3 op het vetpercentage (ANOVA-tabel p< 0,0001) m.a.w. paling is minder vet na 2000 en dit neemt verder af naar 2005 toe. Over de verschillende periodes is er telkens een daling van -2,2% (tabel Fixed effects).

- **waterlooptype** wordt als volgt ingedeeld: stilstaand (referentie), kanaal, polder en rivier waarbij de stilstaande wateren gegroepeerd werden met uitzondering van kanaal. Er is een significant positief effect van type op het vetpercentage (ANOVA-tabel p< 0,0001). Als referentie is de groep van stilstaande wateren genomen. Volgens dit effect is paling vetter in de polders (+6,4%) en wordt minder vet in rivieren (+5,6%), kanalen (+5,1%) en stilstaande wateren (tabel Fixed effects). Doen de polders het het beste omwille van de minste vervuiling? Hieruit kan alvast besloten worden dat het belangrijk is om de relatie type ↔ vervuiling in rekening te brengen.

VI.2.4. Het globale regressiemodel

De grootte effecten in relatie tot de ruis (individuele verschillen) geven de volgende vergelijking voor de regressierechte bij een palinglengte van 50 cm (tabel Fixed effects):

24,9 + 0,31 *Lengte50* + 5,1 *kanaal* + 6,4 *polder* + 5,6 *rivier* –2,4 *periode2* –4,5 *periode3*.

random effect (locatie): 4,3

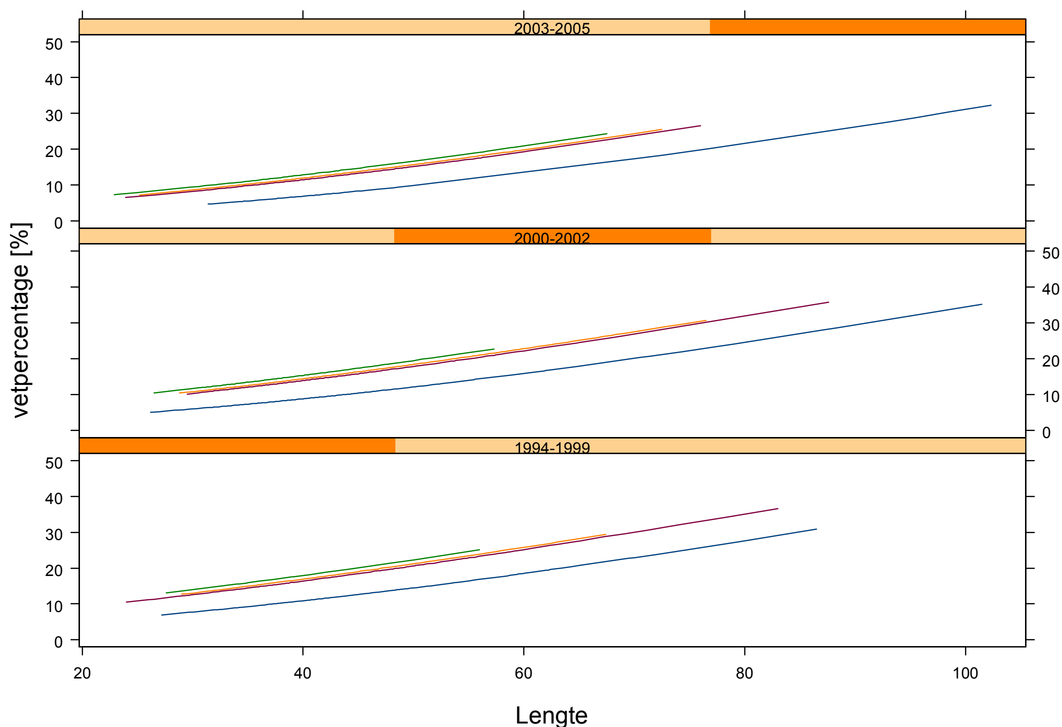
ruis (individuele paling): 7,7

Het effect van de locatie en van de individuele verschillen tussen palingen heeft een grotere waarde dan de andere effecten (type, periode). Dit is te verwachten gezien de zeer grote variatie in vervuilingdruk over de verschillende meetplaatsen. Bovendien heeft elke individuele paling zijn eigen levensgeschiedenis wat blijkbaar resulteert in grote verschillen (hoge ruis). Het random effect geeft een maat voor het effect van de locatie op de ligging van de regressierechte. Locale factoren zorgen ervoor dat de regressierechte lager of hoger ligt. Het grootte effect is vergelijkbaar met andere factoren (i.h.b. type) en is minder groot dan voor de individuele paling (ruis). Dit kan te wijten zijn aan het verschil in vervuilingsgraad.

Samenvattend kunnen we zeggen dat het vetgehalte lineair toeneemt met de lengte +3,5% per 10 cm; dat stilstaande wateren een lager vetgehalte vertonen: verschil 5,5 à 6,4% en dat er een afname is van het vetgehalte in de tijd (negatieve trend): -2,4% en -4,5%. We besluiten dat het basismodel van waaruit we verder bouwen is:

VpctA ~Lengte + TypeS + Year3

Een grafische voorstelling van het model geeft een beter beeld van de feiten. Figuur 6.3 stelt het effect van de lengte, het type en de periode voor op het vetpercentage. We zien dat het vetpercentage toeneemt met de lengte en dit in elke periode. We zien eveneens dat de toename het kleinst is voor stilstaande wateren (blauw) en vrij gelijkend is voor kanalen (groen), rivieren (oranje) en polderwaterlopen (zwart).



Figuur 6.3: Grafische voorstelling van het basismodel waarbij het effect van lengte, type (stilstaande wateren (blauw), kanalen (groen), rivieren (oranje) en polderwaterlopen (zwart)) en periode op het vetpercentage afgebeeld wordt.

VI.3. Het effect van de voornaamste PCB's samen

VI.3.1. Het model

Nu het basismodel opgesteld is en we een idee hebben van de belangrijkste factoren die een invloed uitoefenen op het vetgehalte, kan de vuilvracht in rekening gebracht worden. Hiervoor breiden we het basismodel uit onder volgende vorm: basismodel + vuilvracht | conditie waarbij in het basismodel rekening gehouden wordt met de confounders. Structureel ziet het model er dan als volgt uit:

VpctA ~ Lengte + Year3 + Type3 + logCBsomD

met: logCBsomD = logCBsom – median(logCBsom)

VI.3.2. De ANOVA-tabel

Een belangrijke vraag was in hoeverre de impact van de PCB's ook afhankelijk was van de locatie en hiervoor stelden we een random effects model op dat de afhankelijkheid van de regressiecoëfficiënt uitdrukte voor *logCBsomD* en de locatie *Code*.

We bekeken volgende mogelijkheden:

M1 ↔ list(Code = ~ logCBsomD)
M2 ↔ list(Code = ~ pdDiag (logCBsomD))
M3 ↔ list(Code = ~ 1) = ~ 1 | Code

De eerste twee modellen drukken uit dat zowel het intercept als de helling van *Code* afhangen. In het derde model is dat alleen het geval voor het intercept. Het verschil van het eerste met het tweede model is dat we daar ook de correlatie tussen intercept en helling laten afhangen van de locatie.

ANOVA

	Model	df	AIC	BIC	logLik	Test	L.Ratio	p-value
Mfit1	1	12	16424	16493	-8200			
Mfit2	2	11	16426	16489	-8202	1 vs 2	3.5	0.0624
Mfit3	3	10	16462	16520	-8221	2 vs 3	38.3	<.0001

Het model M1 is het meest complete model. Wat we hier nagaan, is in hoeverre we het model kunnen vereenvoudigen. Als er geen significant verschil is tussen twee opeenvolgende modellen (waar het laatste een vereenvoudiging is van het vorige), dan kunnen we de twee modellen als evenwaardig beschouwen. We verkiezen dan het meest eenvoudige conform het algemene principe dat we bij statistische modelbouw het meest eenvoudige model zoeken dat nog goed aansluit bij de data. Uit bovenstaand model blijkt dat het model M3 significant verschillend is van M1, maar model M2 verschilt niet significant van M1 (p = 0.06). Dus we kiezen voor M2.

VI.3.3. Het globale regressiemodel

Vooraleer we in de volgende paragrafen in detail de termen van het model bespreken bekijken we eerst het globale model. De grootte effecten in relatie tot de ruis (individuele verschillen) geven de volgende vergelijking voor de regressierechte bij een palinglengte van 50 cm (tabel Fixed effects):

μ = 24,4 + 0,35 *Lengte50* – 3,8 p*eriode2* – 7,8 *periode3* + 9,8 *kanaal* + 7,0 *rivier* – 0,2 *polder* – 12,16 *($log_{10}(CB_{som})$) - mediaan*

$b_0 \propto N(0; 5{,}69)$ = *random intercept* (verschillen tussen locaties)

$b_1 \propto N(0; 5{,}53)$ = *random slope* (verschillen binnen locaties)

$\varepsilon \propto$ N(0; 6,63) = *ruis* (individuele paling)

De coëfficiënten bepalen hoe het gemiddelde vetpercentage anders is dan bij de referentietoestand. We gaan stap voor stap te werk bij de interpretatie van het model.

De ruis (6,36) is iets kleiner dan in het basismodel (7,7) dus het model verbetert. Door rekening te houden met de lichaamsvracht in paling wordt het vetpercentage beter voorspelbaar (R^2= 31,8%). De grootteorde is vergelijkbaar met andere effecten. De verschillen tussen de locaties (random intercept): 5,69 is iets groter dan in het basismodel (5,53). Dit wijst op het effect van locale factoren op de positie van de regressierechte (hoog/laag). Het grootte effect is vergelijkbaar met andere factoren (i.h.b. type) en minder groot dan voor ruis (individuele paling: 6,36). De random slope (5,53) is een maat voor het effect van locale factoren op de helling van de regressierechte. De gemiddelde waarde (12,2) geeft een kans om op sommige plaatsen een positieve helling= 1,4% (gebaseerd op N(12,2; 5,53) te krijgen.

VI.3.4. Discussie van de fixed effects

Hieronder worden de verschillende termen die in het model opgenomen zijn kort besproken. De tabel geeft de geschatte coëfficiënten weer.

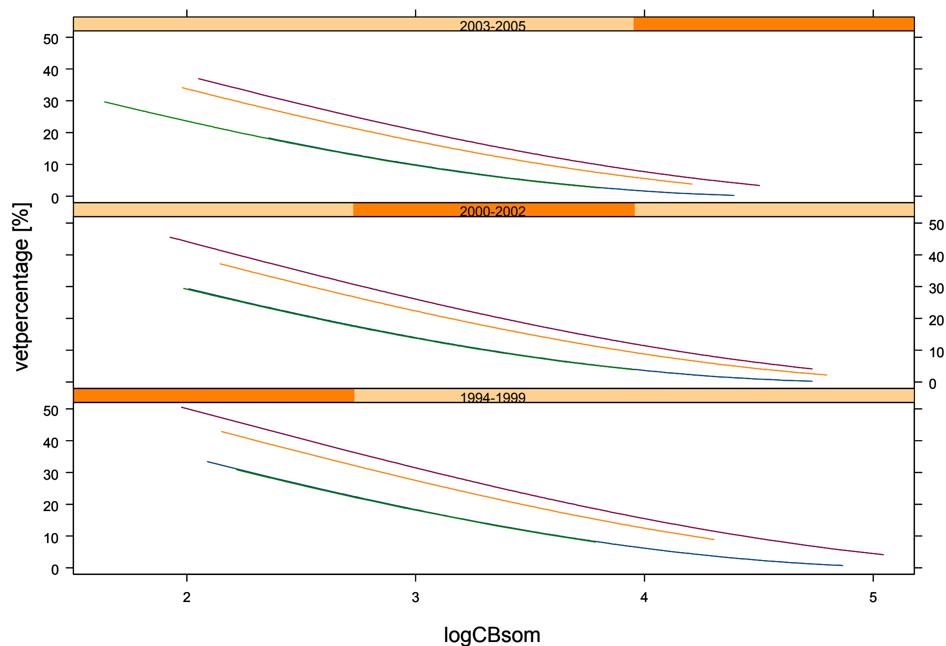
```
Fixed effects:
                   lower     est.    upper
  (Intercept)  22.749   24.372   15.994 / B: 23.458
     Lengte50   0.313    0.351    0.388 / B:  0.346
  TypeSpolder  -2.962   -0.177    2.607 / B:  6.441
  TypeSrivier   5.103    6.973    8.843 / B:  5.580
  TypeSkanaal   7.801    9.747   11.692 / B:  5.121
Year32000-2002  -4.924   -3.773   -2.623 / B: -2.239
Year32003-2005  -8.984   -7.806   -6.628 / B: -4.523
     logCBsomD -13.316  -12.158  -10.999
```

- **palinglengte**: per 10 cm is er een toename van 3,5% vet. Het inbrengen van de PCB-last in het model heeft geen impact op de relatie tussen het vetpercentage en de palinglengte. Bij een lengtetoename van 50 cm is dus er een vettoename van 17,5%. Een grafische voorstelling van het model geeft een beter beeld van de feiten. Figuur 6.4a stelt het effect van vuilvracht, het type en de periode voor op het vetpercentage bij palingen van 50 cm. We zien dat het vetpercentage afneemt met de vuilvracht en dit in elke periode. We zien eveneens dat de afname het grootst is voor rivier (bruin) gevolgd door kanaal (oranje) en vrij gelijkend is voor polderwaterlopen (blauw) en stilstaande wateren (groen).

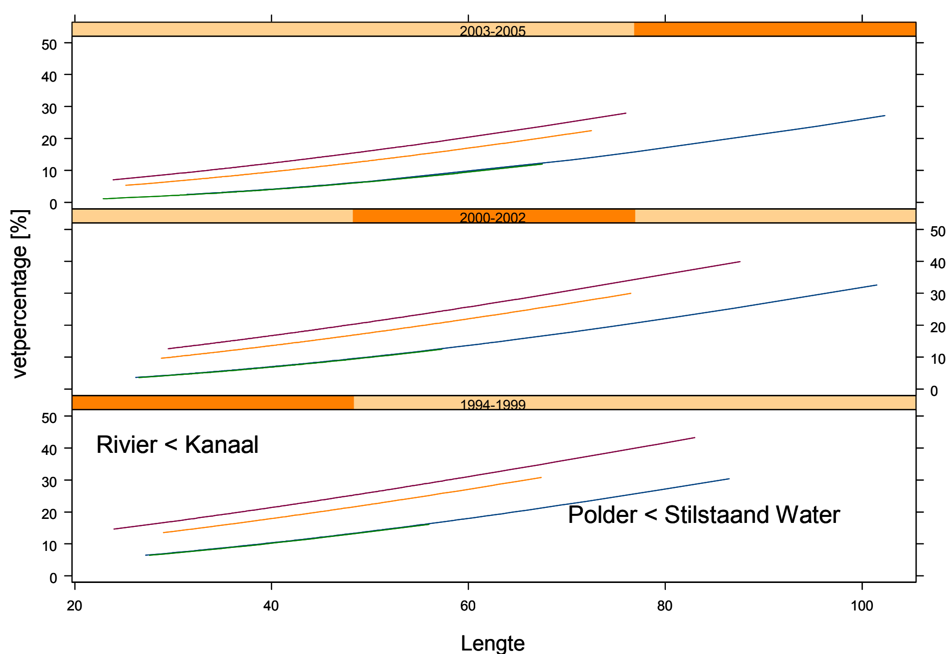
- Er was reeds een daling van het vetpercentage in de tijd aangegeven over de drie **periodes**. De daling t.o.v. de referentieperiode (1994-1999) is -3,8% voor 2000-2002 en -7,8% voor 2003-2005. Het effect is dus groter geworden (voordien -2,2%). Door een extra term in de regressie te brengen, kunnen de effecten van de andere variabelen verminderen of vermeerderen. Als de vuilvracht in de tijd vermindert (Maes *et al.*, in press) en je houdt er eerst geen en dan wel rekening mee, dan zal het effect van periode groter worden. Dit is wat we hier zien.

- Stilstaande wateren kwamen reeds als slechtste **type** naar voren wat betreft het vetpercentage. Wanneer we rekening houden met de vervuiling gaan de polders achteruit (-0,18%). De impact op kanaal (+9,7%) en rivier (+7,0%) is kleiner waardoor het betere milieus lijken te zijn m.a.w. paling is er vetter dan in polders en stilstaande wateren. Het blijft dus belangrijk om het verband type « vervuiling in het oog te houden.

- $\log_{10}CB_{som}$ geeft in deze schaal een nagenoeg lineair verband. Er is een afname van 12,2% per eenheid in de log-schaal. Een grafische voorstelling van het model geeft een beter beeld van de feiten. Figuur 6.4b stelt het effect van de lengte, het type en de periode voor op het vetpercentage bij palingen met eenzelfde vuilvracht (logCBsom). We zien dat het vetpercentage afneemt met de vuilvracht en dit in elke periode. We zien eveneens dat de afname het kleinst is voor rivier (bruin) gevolgd door kanaal (oranje) en vrij gelijkend is voor polderwaterlopen (blauw) en stilstaande wateren (groen).



a



b

Figuur 6.4: De invloed van verschillende factoren op het vetpercentage (a) van een paling van 50 cm en (b) op de CBsom. bruin: rivier; oranje: kanaal; blauw: polder en groen: stilstaand water.

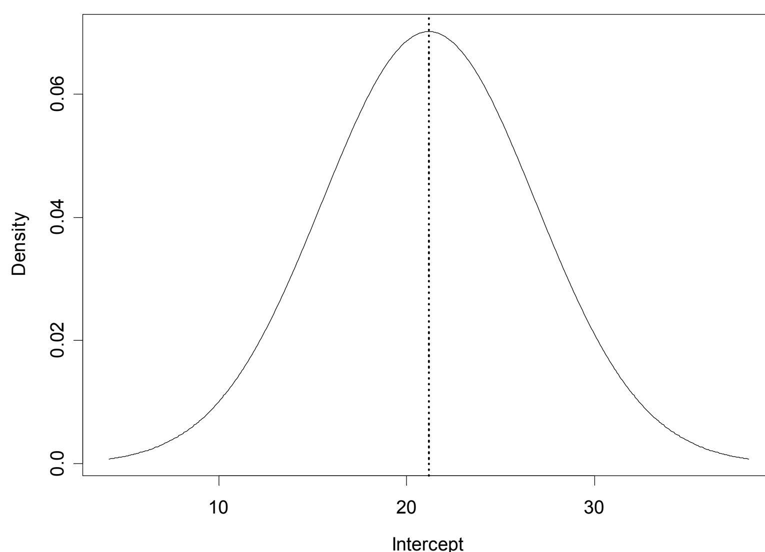
VI.3.5. De random effects (de variatie van de regressiecoëfficiënten) en de ruis

De volgende stap is een simulatie om voeling te krijgen met de variatie van de coëfficiënten in het model. Er zijn immers grote verschillen tussen de meetplaatsen zowel naar intercept als naar helling. Onderstaande tabel geeft een overzicht van de random termen in het model.

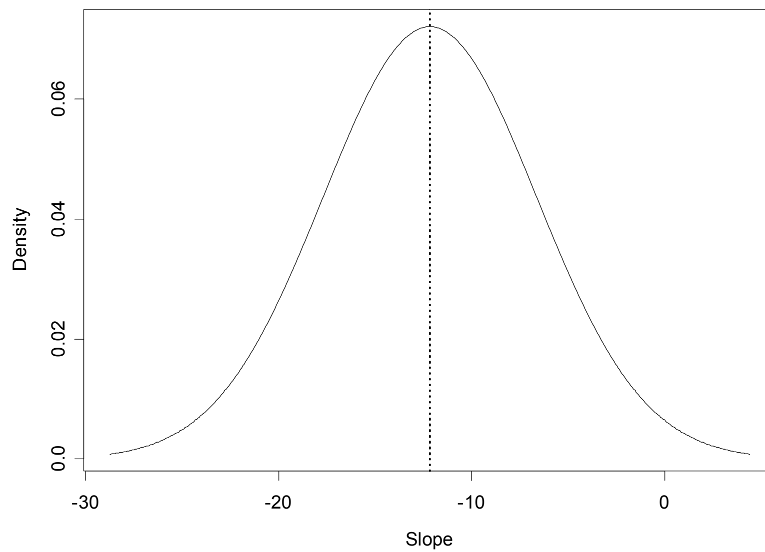
```
 Random Effects: Level: Code
                Lower  est.   upper
sd((Intercept))  5.05  5.69   6.41
  sd(logCBsomD)  4.33  5.53   7.06

 Within-group standard error:
 lower est. upper
  6.15 6.36  6.58 / B: 7.72
```

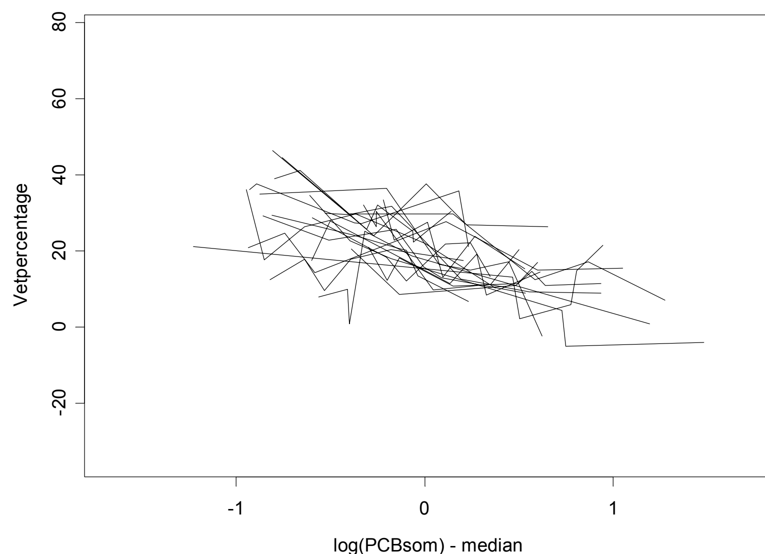
Daarenboven is er nog het effect van type meetplaats, palinglengte en periode. Deze laatste effecten schakelen we uit door te standaardiseren voor de periode 1994-1999 op stilstaande wateren en op lengte= 50 cm (mediaan = 40,9 cm) en het effect van de CBsom uitgedrukt t.o.v. de mediaan in de log-schaal. De simulatie wordt uitgevoerd bij gelijke “fixed factors”: d.w.z. lengte, periode en type (Figuur 6.5a) en vervolgens voor de ruis in de individuele paling (Figuur 6.5b) en voor variatie in het bereik van de vuilvracht (Figuur 6.5c). We kunnen hieruit besluiten dat er een sterk verband bestaat tussen de lichaamsvracht aan PCB’s op vetbasis en het vetgehalte. Daarenboven is de variatie van locatie tot locatie groot.



a



b



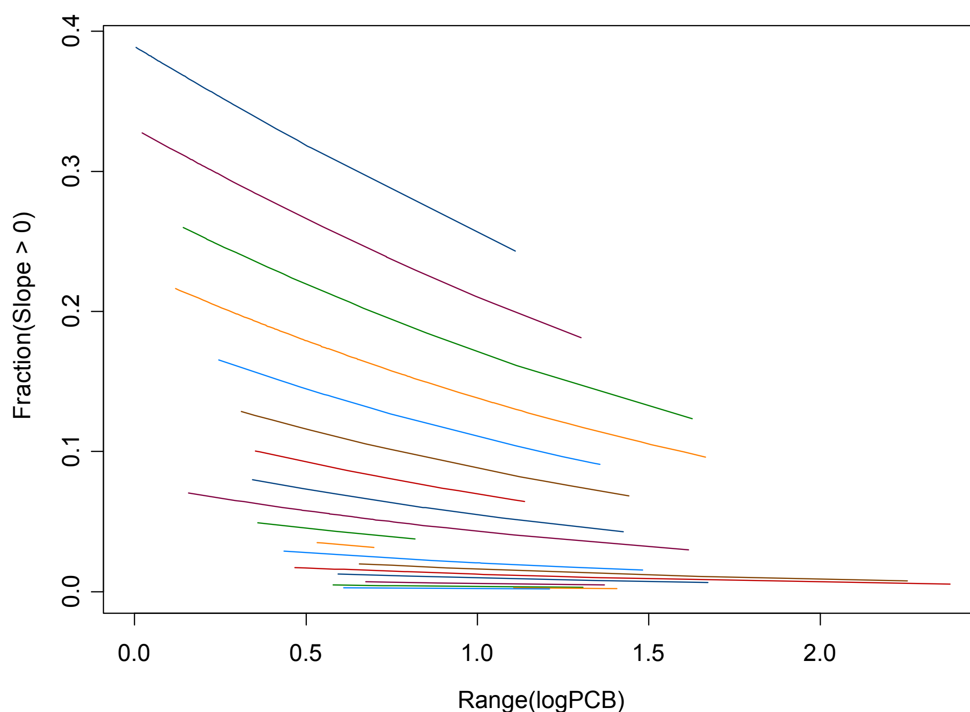
c

Figuur 6.5: De simulatie toont de verschillende lijnen (a) per locatie en (b) de ruis van individuele palingen en (c) de verschillen in het bereik van de vuilvracht.

VI.3.6. Screening per locatie

Het kan voorkomen dat het globale beeld een dalende (of stijgende) trend vertoont, maar als je binnen elke plaats apart kijkt er een andere relatie is. Dus is het nodig om ook per locatie naar de impact te kijken d.i. nagaan hoe de relatie tussen de variabelen zit. Indien er overal nagenoeg dezelfde relatie tussen logCBsom en vet voorkomt, dan zijn er aanwijzingen voor een causaal verband. Het globale

patroon is dalend (het vetgehalte daalt bij toenemende PCB-belasting) daarom wordt per locatie de relatie met de polluenten bekeken. In elke locatie met vet- en PCB-gegevens voor minstens twee punten berekenen we de regressierechte en onderzoeken we de distributie van de coëfficiënten. We vragen ons af of we overal dezelfde relatie tussen logCBsom en vet vinden? Indien dat het geval is, zijn we zeker dat er een causaal verband bestaat. Uit de eerste resultaten blijkt alvast dat de helling meestal negatief is, slechts in een heel beperkt aantal plaatsen (16%) is er een stijgend verband en meestal op plaatsen waar de range van de CBsom-waarden beperkt is of het aantal palingen beperkt. Beide zijn afhankelijk van elkaar: als er weinig palingen zijn, is er ook een beperkte range. We kunnen dit expliciet modelleren (gam model: binomia) en dan zien we dat naarmate het aantal palingen op een bepaalde locatie toeneemt, er steeds minder positieve verbanden zijn. Dit is logisch omdat toevallige fluctuaties een beperktere impact hebben wanneer men een ruimer zicht heeft. Daarenboven zien we dat we vooral extreme waarden hebben wanneer het bereik klein is. Ook heel logisch. Naarmate dichter bij elkaar, zijn de hellingen meer en meer toeval en is het mogelijk om per toeval een positieve trend te krijgen zelfs wanneer de werkelijke trend negatief is (Figuur 6.6).



Figuur 6.6: Het gecombineerde effect van het bereik van vuilvracht en het aantal palingen. De kans op een positieve helling vermindert. Als de interne variatie in een waterloop maar groot genoeg is, komen er nog nauwelijks positieve hellingen voor.

VI.3.7. Vetpercentage versus conditiefactor

Naast het vetpercentage kan ook de conditiefactor als een maat voor fitness beschouwd worden (zie hoger). Daarom worden beide modellen vergeleken en eveneens wordt hier gewerkt met de vuilvrachten uitgedrukt op versbasis en vetbasis.

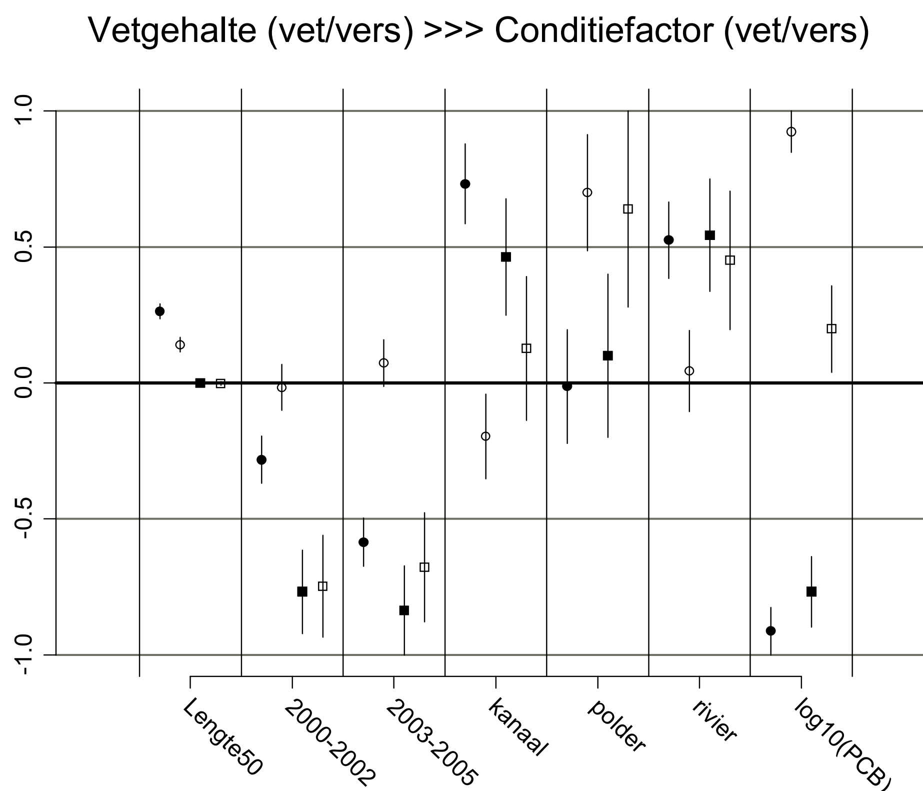
- Vetgehalte ~ log10(PCB vet of vers)
- CF ~ log10(PCB vet of vers)

De coëfficiënten worden herschaald tussen -1 en 1 om onderlinge vergelijking in de figuren te vergemakkelijken. De lengte wordt enkel beschouwd in het model met het vetgehalte, daarin is ze vergelijkbaar ongeacht het model. De periode verandert sterk. Voor het vetgehalte ~ log10($PCB._{vers}$) is er geen effect meer en voor de CF zijn er geen verschillen tussen 2000-2002 & 2003-2005. Voor het type zien we dat de rangorde wisselt naargelang het model. Voor de vuilvracht (log(PCB)) is het omgekeerd naargelang vers of vet beschouwd wordt m.a.w. we kunnen geen eenduidige besluiten trekken (Tabel 6.1 en Figuur 6.7). Die omgekeerde relatie was al duidelijk uit Figuur 6.5.

Tabel 6.1: Coëfficiënten van de modellen op basis van het vetgehalte en op basis van de conditiefactor als maat voor fitness, en gebaseerd op vuilvrachten zowel op vet- als op versbasis.

	CFm vet	CFm vers	VpctA vet	VpctA vers
(Intercept)	0,213	0,251	24,372	26,529
Lengte50			0,351	0,198
< 2000				
2000–2002	-0,557	-0,466	-3,773	-0,245 ns
2002–2005	-0,608	-0,426	-7,806	1,021 ns
Stilstaand				
Kanaal	0,338	0,087 ns	9,746	-2,775
Polder	0,395	0,407	-0,177 ns	9,881
Rivier	0,075 ns	0,285	6,973	0,570 ns
log10(PCB)	-0,559 (-0,651; -0,464)	0,115 (0,018; 0,212)	-12,158 (-13,316; -10,999)	13,022 (11,943; 14,100)

In Figuur 6.7 vergelijken we vier modellen. De eerste twee hebben het vetgehalte als afhankelijke variabele, de twee laatste de CF. Voor zowel vetgehalte als CF hebben we twee alternatieven bekeken om de impact na te gaan van de PCB's. Een keer uitgedrukt als vetgehalte en een keer op basis van vetgewicht.

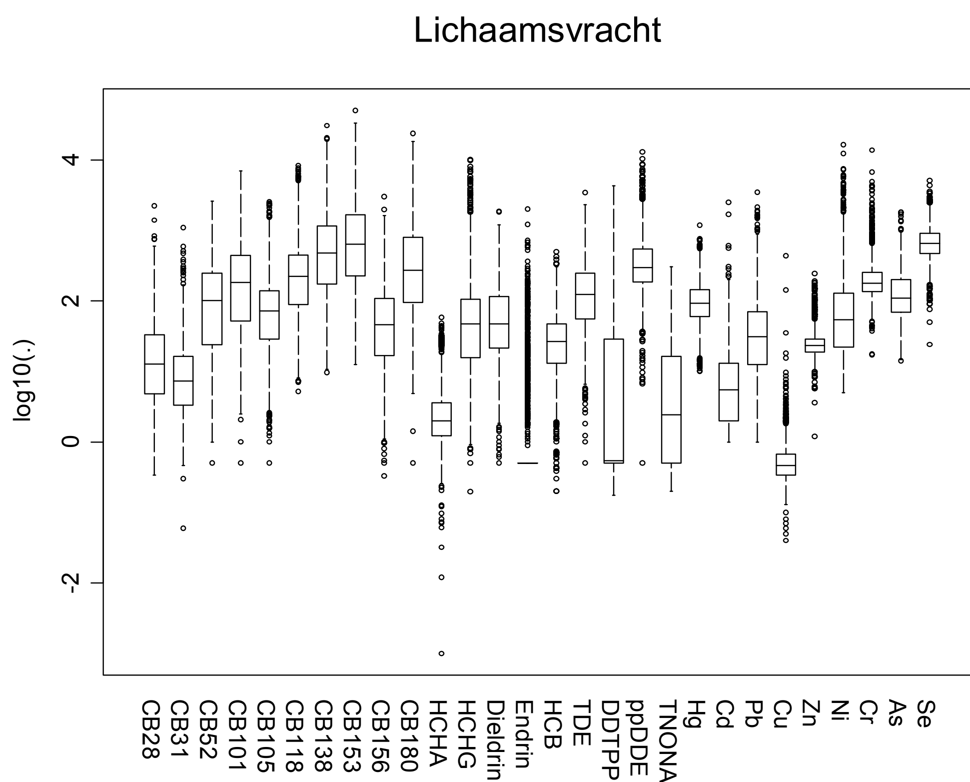


Figuur 6.7: Vergelijken van modellen voor het vetgehalte en de conditiefactor beide zowel op vet- als op versbasis uitgedrukt.

Als PCB_{vers} in het model wordt opgenomen, bestaat er een positieve relatie tussen de CF en de vuilvracht. Deze relatie is te verklaren door de positieve correlatie tussen de CF en het vetpercentage. PCB_{vers} = PCB(vet * Vpct) m.a.w. het vetpercentage bepaalt PCB_{vers} heel sterk en het gevolg is dat de positieve relatie van het vetpercentage op de CF doorweegt. Als we het vet percentage wel opnemen in het model, dan is het effect van PCB_{vers} en PCB_{vet} gelijk en zijn beide modellen equivalent.

VI.4. Screening per polluent

Voor de verkennende analyse van de invloed van de polluenten (PCB's, pesticiden en zware metalen) werd dezelfde benaderingswijze gebruikt als boven beschreven voor de ΣPCB's. Waarbij ook hier de data groter moeten zijn dan de detectielimiet en er getrimd (0,01) moet worden om de extremen weg te filteren.
Figuur 6.8 stelt voor de verschillende polluenten afzonderlijk hun concentratie in de log-schaal voor. We zien dat de grootteorde tot vier eenheden verschilt. Dit kan te maken hebben met de verschillen in eenheden waarin de concentraties oorspronkelijk weergegeven worden (ng/g of mg/kg). PCB153 en PCB156 komen in de hoogste concentraties voor, evenals de pesticide *pp*'-DDE en het zware metaal selenium.

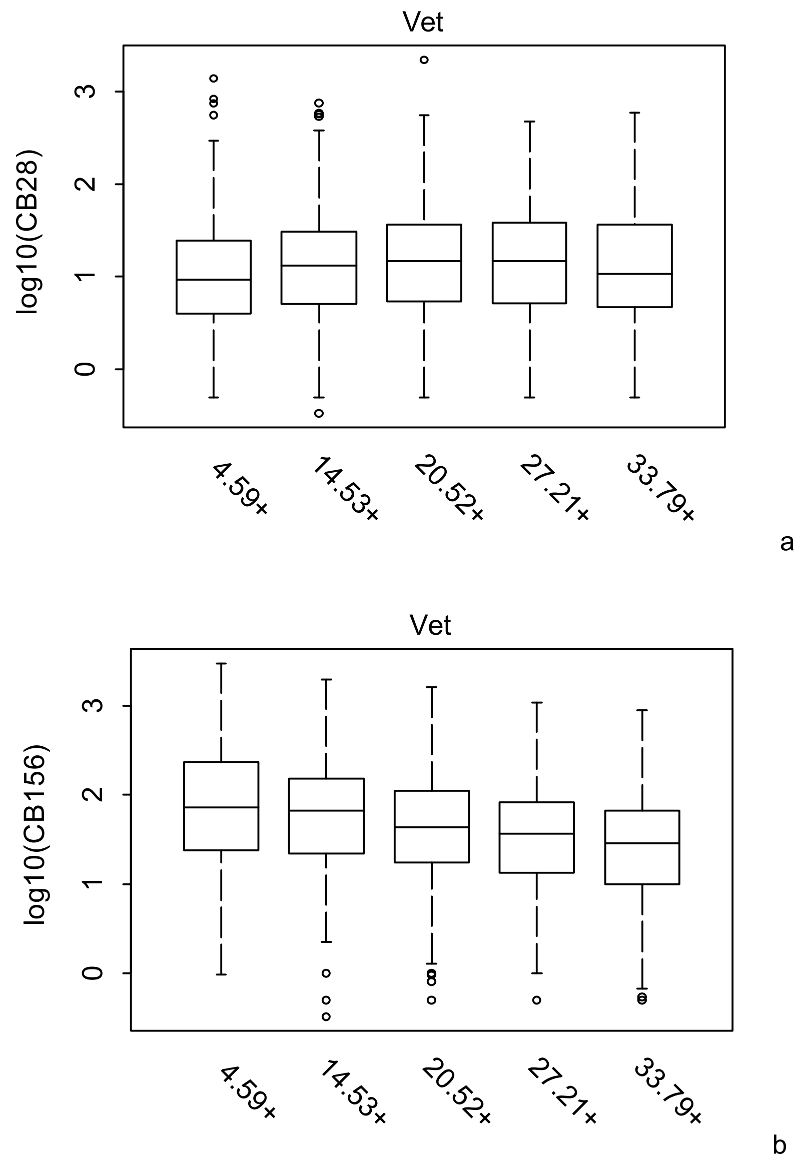


Figuur 6.8: De concentraties in de log-schaal voor de verschillende elementen.

Voorts werd de impact van de polluent op de verschillende parameters uit het basismodel bekeken (vet, type, lengteklasse en jaar). Hier worden slechts enkele figuren weergegeven van polluenten en hun invloed op het vetpercentage. Een uitgebreid overzicht zit in bijlage 2.

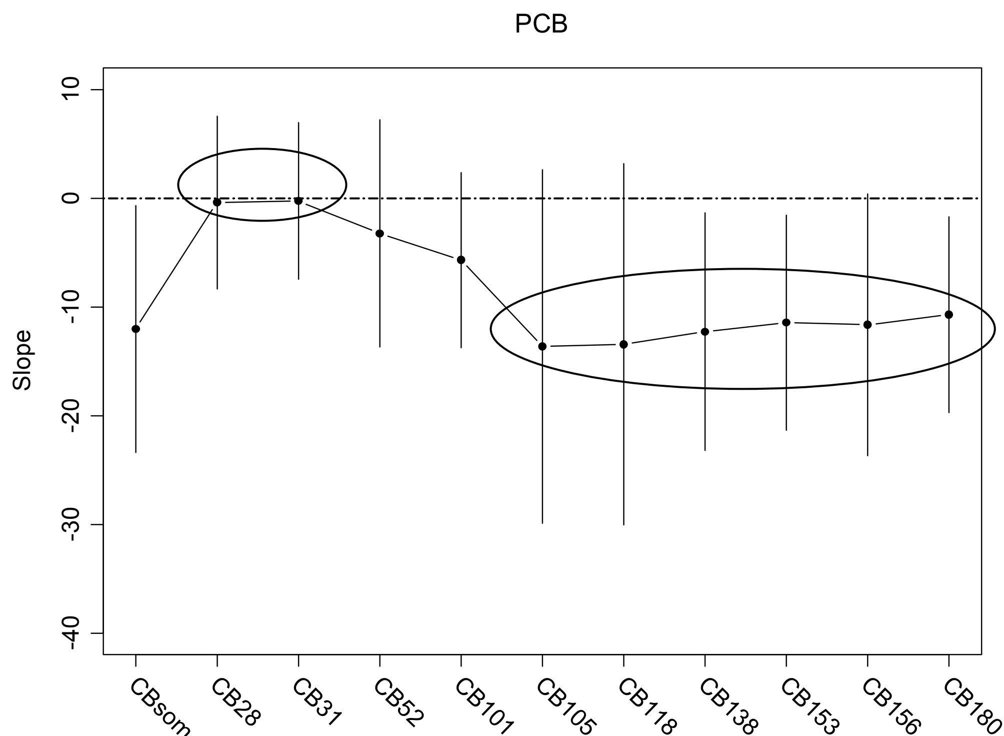
VI.4.1. PCB's

De PCB's afzonderlijk vertonen geen significante trend voor het type, de lengteklasse en het jaar (bijlage 2). Voor de invloed van PCB's op het vetpercentage zien we een tamelijk consistent verhaal waarbij vooral de hoger gechloreerde PCB's de hoogste effecten veroorzaken. Het vetpercentage werd hiervoor in vier klassen onderverdeeld. PCB28 (Figuur 6.9a), PCB31, PCB52, PCB104 vertonen geen duidelijke trend. Ze hebben geen invloed op het vetpercentage, dit in tegenstelling tot PCB105, PCB118, PCB138, PCB153 en PCB156 (Figuur 6.9b) die een duidelijk dalende trend vertonen. M.a.w. bij een hogere PCB-concentratie zal het vetpercentage gemiddeld toenemen. Dit is in tegenstelling met wat men zou verwachten en komt omdat de vetconcentratie in de figuur t.o.v. het oorspronkelijk gewicht is uitgedrukt d.i. in versgewicht.



Figuur 6.9: (a) PCB28 heeft geen invloed op het vetpercentage; (b) PCB156 vertoont een significant dalende trend met toenemend vetpercentage.

Het mixed model werd gefit om de relatie van de polluent met het vetpercentage na te gaan. Figuur 6.10 laat voor de verschillende PCB's de helling van de regressierechte zien. Hier krijgen we nogmaals bevestigd dat enkel de hogere PCB's een trend vertonen. Op zich zijn ze niet significant maar als we naar de som kijken (ΣPCB) dan wel. PCB28 en PCB31 hebben geen enkele invloed.

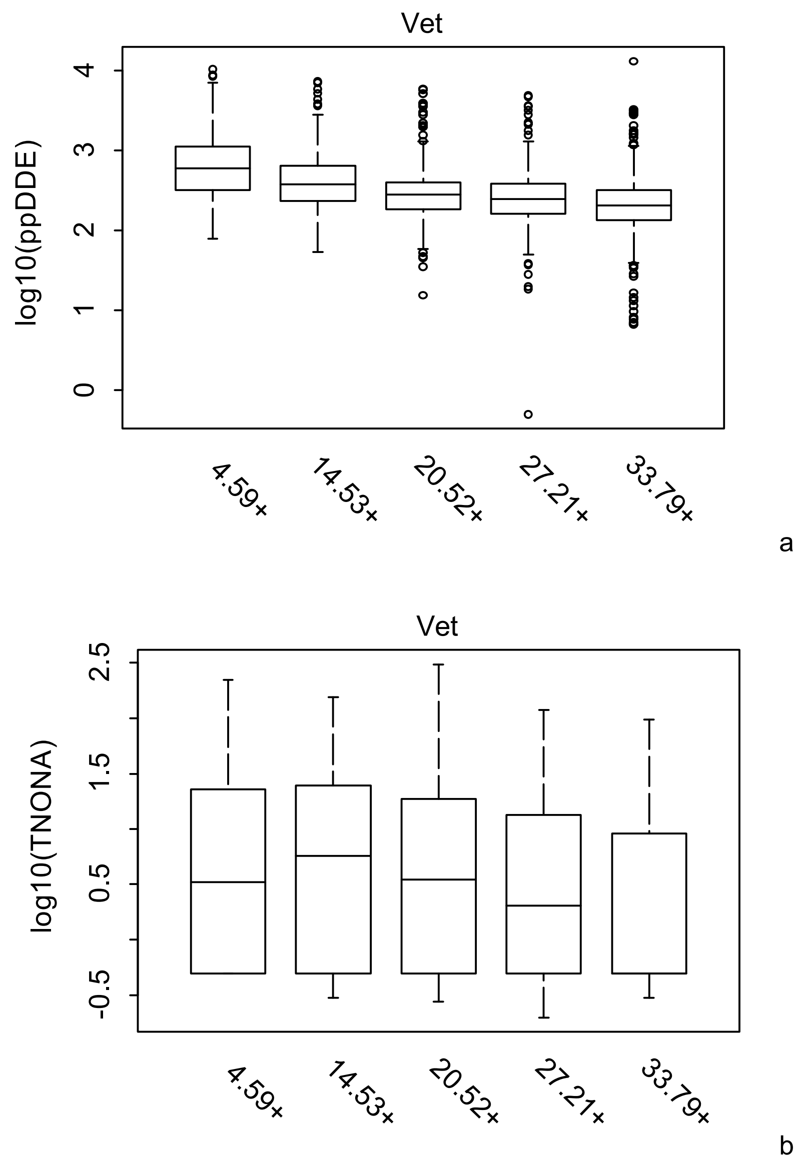


Figuur 6.10: De helling van de regressierechte voor de verschillende PCB's. PCB28 en PCB31 hebben geen invloed. Enkel de hoger gechloreerde PCB's vertonen een trend. De verticale strepen stellen de betrouwbaarheidsintervallen voor. Hieronder staan de hellingcoëfficiënten weergegeven voor de PCB's.

	Rslope
CBsom	-12.0255
CB28	-0.3804
CB31	-0.2508
CB52	-3.2395
CB101	-5.6792
CB105	-13.6329
CB118	-13.4406
CB138	-12.2701
CB153	-11.4393
CB156	-11.6374
CB180	-10.6998

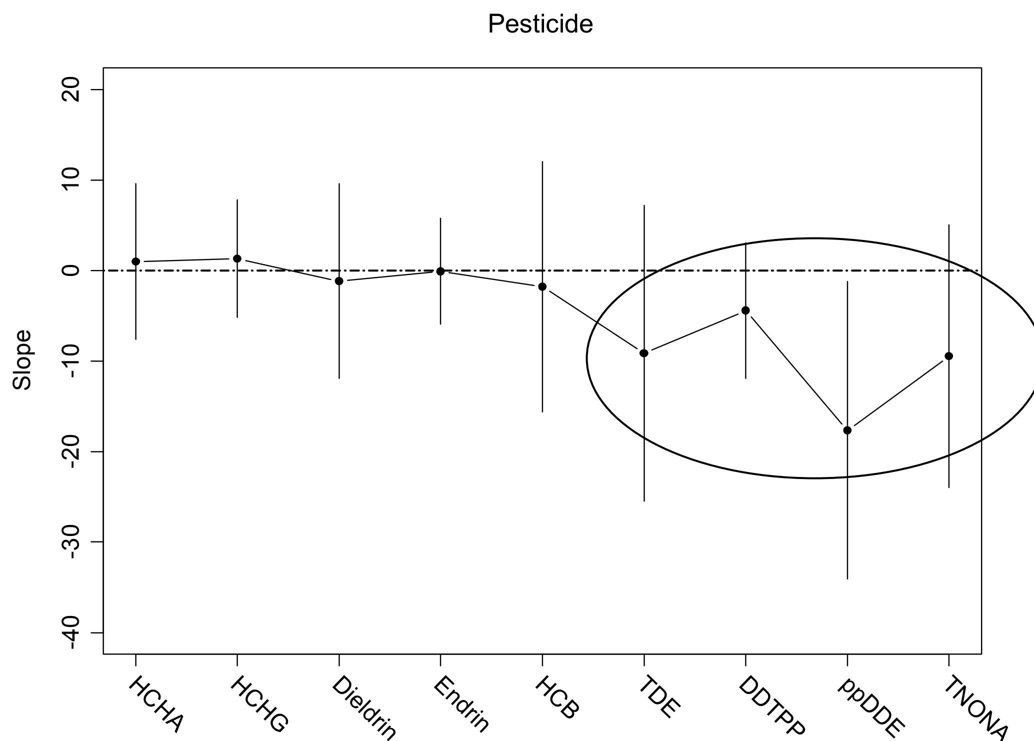
VI.4.2. Pesticiden

Voor pesticiden werd dezelfde analyse uitgevoerd. We zien dat ook hier er geen invloed is op type en lengteklassen. Voor HCHA, HCHG en endrin is er wel een dalende trend met de jaren. DDTPP en TNONA vertonen grote schommelingen met een stijging in de periode 2003-2005 (bijlage 2). Voor het vetpercentage zijn er enkel voor de DDT-derivaten en TNONA effecten waarneembaar. Bij de eerste is er een licht dalende trend (Figuur 6.11a), terwijl voor TNONA het vetpercentage schommelt (Figuur 6.11b).



Figuur 6.11: (a) Er is een licht dalende trend voor *pp*'-DDE; (b) Voor TNONA schommelt het vetpercentage.

Op de algemene figuur (Figuur 6.12) zien we bijna geen relatie tussen het vetgehalte en de polluent uitgezonderd voor de DDT-derivaten en TNONA. Dit is in overeenstemming wat we eerder al aantoonden.

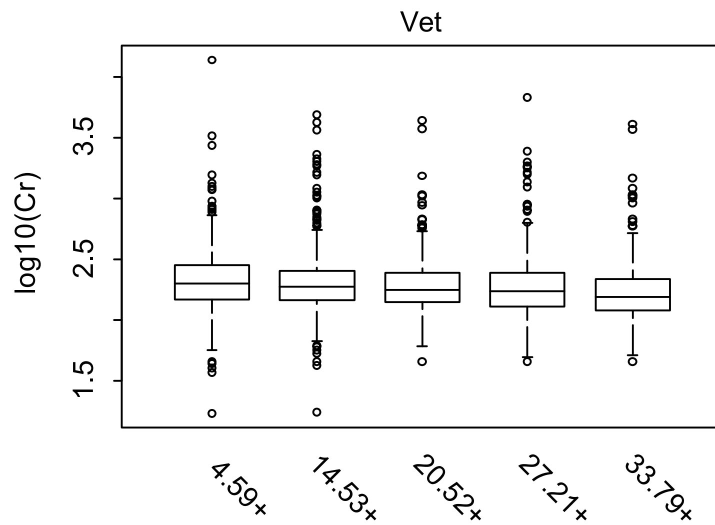


Figuur 6.12: Er is bijna geen relatie zichtbaar voor de pesticiden uitgezonderd voor de DDT-derivaten en TNONA. De verticale strepen stellen de betrouwbaarheidsintervallen voor. Hieronder staan de hellingcoëfficiënten weergegeven voor de pesticiden.

```
          Rslope
HCHA     1.0071
HCHG     1.3221
Dieldrin   -1.1566
Endrin  -0.0786
HCB     -1.7779
TDE     -9.1369
DDTPP   -4.4164
ppDDE   -17.6535
TNONA   -9.4482
```

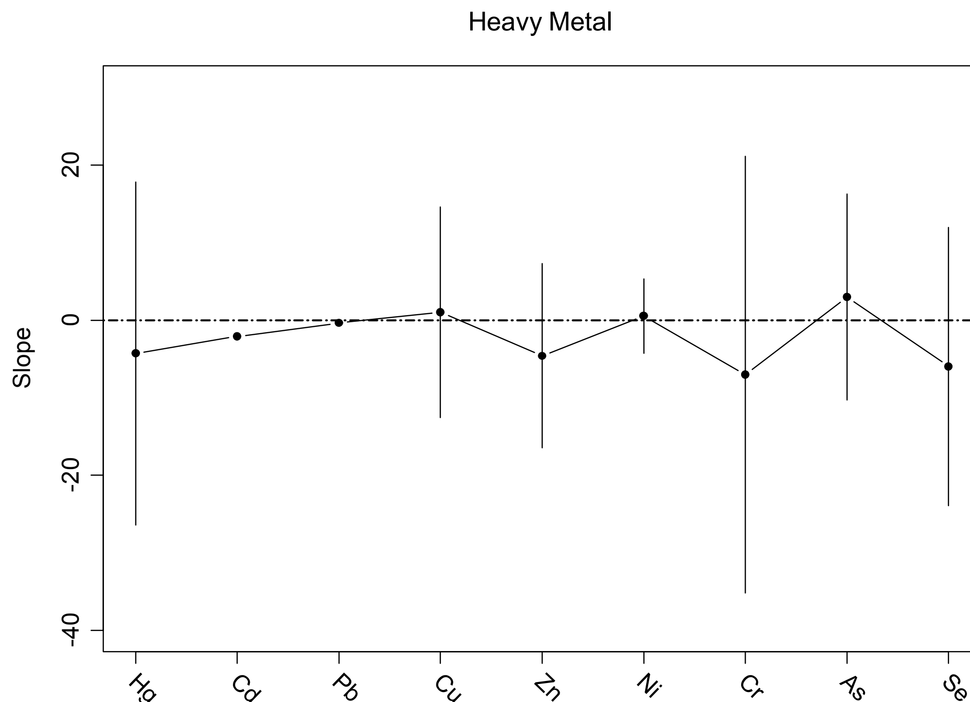
VI.4.3. Zware metalen

Mogelijke effecten van zware metalen lijken eerder beperkt te zijn (bijlage 2). De voorspellende kracht van Cr op vet is bijvoorbeeld klein. De variatie binnen één vetklasse is groter dan de variatie over de vetklassen heen (Figuur 6.13).



Figuur 6.13: De voorspellende kracht van Cr op vet is klein. De variatie binnen één vetklasse is groter dan de variatie over de vetklassen heen.

Zware metalen blijken geen effect te hebben op het vetpercentage. In de figuur vallen de grote betrouwbaarheidsintervallen op (Figuur 6.14). Deze hebben te maken met het beperkt aantal metingen dat verricht is voor deze stoffen.



Figuur 6.14: Er is geen effect zichtbaar voor zware metalen. De verticale strepen stellen de betrouwbaarheidsintervallen voor. Hieronder staan de hellingcoëfficiënten weergegeven voor de zware metalen.

	Rslope
Hg	-4.2939
Cd	-2.1083
Pb	-0.3721
Cu	1.0297
Zn	-4.6241
Ni	0.5316
Cr	-7.0385
As	2.9694
Se	-5.9789

VI.5. Discussie

VI.5.1. De beschikbare data

De dataset waarop in deze studie gewerkt werd, is op mondiaal vlak uniek. Ze omvat een set van variabelen van ca. 2400 palingen met zowel individuele morfometrische gegevens, locatiegegevens, als milieubelastinggegevens. De palingen werden gecollecteerd op 356 meetplaatsen, verspreid over een eerder beperkt gebied (Vlaanderen), maar met een sterk variërende milieudruk.

De beschikbare individuele morfometrische gegevens van de palingen zijn beperkt tot lengte, gewicht en vetgehalte. Belangrijke gegevens die ontbreken zijn het geslacht van de vissen en de leeftijd. Beide variabelen zijn in de praktijk moeilijk te meten. Nochtans kunnen ze een belangrijk effect hebben

op het vetgehalte. Ook de vangstmethode zou een belangrijke invloed hebben op de gevangen palingen. Heermans & Willigen (1981) meldden grotere waarden voor conditiefactoren bij palingen uit het IJsselmeer gevangen met elektrische sleepnetten dan met staanfuiken. De locatiegegevens omvatten omgevingsvariabelen gerelateerd aan het habitat waarin het individu opgroeide.

VI.5.2. De termen uit het conceptueel model: omgevings- en drukfactoren

De in het model opgenomen omgevingsfactoren zijn tijdstip en jaar van bemonstering, de meetplaats, het bekken en de typologie van de meetplaats. In principe zijn er op niveau Vlaanderen nog veel meer parameters beschikbaar. In het kader van deze studie bleek het niet mogelijk om ze mee in het model te betrekken enerzijds omdat ze niet voor alle meetplaatsen beschikbaar zijn en anderzijds omdat ze niet gelijktijdig met de palingbemonstering gemeten werden. Deze relevante parameters zijn o.a. waterkwaliteitsgegevens, gegevens over trofisch niveau, voedselbeschikbaarheid, palingdensiteit, ziekte, ecologische indices zoals de BBI (Belgische Biotische Index) en IBI (Visindex of Index voor Biotische Integriteit). Dat de eutrofiëringtoestand van het water het vetgehalte beïnvloedt, werd al aangetoond door Piatek (1970). Belpaire *et al*. (1992) toonden aan dat bij jonge paling de groei heel sterk beïnvloed wordt door de palingdensiteit en de voedselbeschikbaarheid. Infecties door parasieten kunnen een invloed hebben op het vetpercentage. De nematode *Anguillicola crassus* bijvoorbeeld beschadigt de zwemblaas en veroorzaakt stress waardoor de cortisol plasmawaarden (Sures *et al*., 2001) toenemen die op hun beurt het energiemetabolisme beïnvloeden en zo de opslag aan vetten kunnen tegenwerken (Robinet & Feunteun, 2002). Verschillende studies werden uitgevoerd rond de impact van de zwemblaasparasiet *Anguillicola*, en er werd gerapporteerd dat infectie van zilverpaling de migratiecapaciteit negatief beïnvloedt (WG Eel 2006). Recentelijk werd aangetoond dat de IBI correleert met bepaalde vervuilingfactoren in vis. Zo vonden Bervoets *et al*. (2005) een verband tussen zware metalen in riviergrondel en de IBI, en recentelijk werd een verband aangetoond tussen parameters voor endocriene verstoring gemeten in blankvoorn en IBI-metingen (Berckmans *et al*., 2007).

De in het model bestudeerde milieudrukfactoren zijn bioaccumulatiegegevens van milieuvervuilende stoffen. De impact van drie groepen van stoffen werd nagegaan: PCB’s, organochloorpesticiden (OCP’s) en zware metalen. Voor de PCB’s en OCP’s worden de meetgegevens uitgedrukt als concentraties op basis van het versgewicht én als concentraties op basis van het vetgewicht. Er werd gekozen om in het statistisch model voor deze stofgroepen de meetgegevens op vetbasis te gebruiken. De bioaccumulatiegegevens van de zware metalen worden uitgedrukt op basis van het versgewicht.

VI.5.3. De fitness van paling

De metingen worden op opgroeiende gele paling gedaan. We nemen hierbij aan dat de fitness van de gele paling in belangrijke mate ook de fitness van de mature zilverpaling zal mee bepalen. In het model wordt de fitness beoordeeld aan de hand van het vetgehalte van de paling enerzijds en aan de hand van de conditiefactor anderzijds. Hoe vetter de paling hoe beter zijn fitness en hoe hoger de conditiefactor (d.i. hoe hoger het gewicht bij een bepaalde lengte), hoe hoger zijn fitness. De globale trend tussen de conditiefactor en het vetgehalte is positief: hoe hoger het vetpercentage, hoe hoger de conditiefactor. Dit is een logisch verband. Tesch (1968) schreef reeds over de conditiefactor dat die gebruikt wordt voor het vergelijken van de “conditie”, of het “welzijn” van de vis en gebaseerd is op de assumptie dat zwaardere vissen van een bepaalde lengte in een betere conditie verkeren (Froese, 2006).

VI.5.4. Het vetgehalte

De uitgevoerde analyse van deze gegevensset is gebaseerd op een gedegen analytisch model waarbij gepeild werd of en hoe de fitness van de paling van Vlaamse oppervlaktewaters beïnvloed wordt door externe factoren. Eerst werd er vastgesteld dat het vetgehalte in de paling sterk varieerde. Teneinde mogelijke verklaringen hiervoor te duiden werd in een eerste fase een basismodel opgesteld waarin zoveel mogelijk rekening gehouden werd met niet contaminant gerelateerde variabelen (palinglengte, periode (staalnamejaar), waterlooptype). Daarna werd nagegaan in hoeverre de lichaamsvracht aan PCB's, pesticiden en zware metalen een rol speelt om het verschil in vetpercentages te verklaren. Zeker bij lange afstand migratoren is het vetgehalte immers een essentiële parameter voor een normale levenscyclus. De wegtrekkende palingen zijn afhankelijk van de vetreserves die ze in hun opgroeifase in het zoet water opgebouwd hebben. De drempelwaarde voor een succesvolle migratie en reproductie is 20,7% vet (Van den Thillart *et al.*, 2005). Als de vetreserves te laag zijn, kan dit een belangrijke impact hebben op het welslagen van de reproductie. Al werden in Noorwegen (Svëdang & Wichström, 1997) en Zweden (Bergersen & Klemetsen, 1988) al wegtrekkende zilverpalingen gemeld met lagere vetpercentages (10-28%). Het gemiddelde vetgehalte in Vlaamse paling bedraagt slechts 15,1%. Bovendien blijkt uit de dataset dat het vetpercentage de laatste 15 jaar afgenomen is van 21 naar 14%. De analyse poogt hierbij de oorzaken voor deze dalende trend te achterhalen, specifiek de rol van de contaminanten.

Het vetgehalte verhoogt met de leeftijd. Dit is in analogie met resultaten van (Piatek (1970). Piatek (1970), Heermans en Willigen (1981) en de Boer & Hagel (1994) rapporteerden eveneens dat vrouwelijke palingen lagere vetgehaltes hebben dan mannetjes. Het ontbreken van leeftijdsgegevens in onze dataset werd ten dele opgevangen door de lengte van de paling in het model te gebruiken. Het is immers bekend dat lengte gecorreleerd is aan de leeftijd van het dier. Uit een model uitgewerkt door Simon (2007) blijkt in Duitse meren paling tussen 40 en 60 cm een leeftijd van 6 tot 10 jaar hebben. Daar paling een geslachtsdimorfisme kent en palingen boven 46 cm uitsluitend vrouwelijk zijn, was het wel mogelijk om te testen of deze groep (vrouwtjes > 46 cm) afweek van de rest. Dit bleek niet het geval.
Het model heeft kunnen aantonen dat het vetgehalte van paling in belangrijke mate beïnvloed wordt door de typologie en door de bemonsteringsperiode. We vinden dat palingen uit stilstaande waters en polderwaterlopen het laagste vetgehalte hebben, waarbij paling uit rivieren en zeker ook kanalen beduidend hogere vetgehaltes hebben. Ook Piatek (1970) registreerde de laagste vetgehalten in paling afkomstig uit meren. Deze observaties zijn ietwat verwonderlijk daar de meeste stilstaande waters en ook polderwaterlopen meestal eutroof zijn en dus voedselrijk, en verhoudingsgewijs een goede fitness verwacht wordt. Anderzijds is het visbestand van deze meren en polders meestal denser dan in rivieren en kanalen. In veel gevallen wordt het bestand ook nog via herbepotingen bijgestuurd. Eén en ander kan dan resulteren in een verstoord biologisch evenwicht en/of geringere voedselbeschikbaarheid. Het is bovendien niet uitgesloten dat de lagere vetgehaltes aangetroffen in paling uit afgesloten waters gerelateerd is aan het feit dat deze waters met paling bepoot worden. Westin (2003) verklaarde de lage vetgehaltes in paling uit Lake Fardum (Zweden) aan het feit dat deze paling uitgezet was. Hiermee stelde hij de efficiëntie en het nut van de uitzettingen in het kader van stockbeheer in vraag. Heermans & Willigen (1981) meldden enkel dat de vetgehalten van het spierweefsel grote verschillen kunnen vertonen per watertype.

VI.5.5. De impact van contaminanten op het vetgehalte

In Vlaanderen werd in 1986 de productie van PCB's verboden of stopgezet toen duidelijk werd dat ze een gevaar voor mens en milieu betekenen. Desondanks ligt er in de (water)bodem en in het slib nog

een erfenis, aangezien PCB's ruim 50 jaar zijn toegepast in industrie en techniek. En ook zijn er nog steeds transformatoren en condensatoren in gebruik die PCB's bevatten. Toch zouden we in komende jaren een verdere daling van de PCB-concentraties in palingweefsel mogen verwachten. Dit kon recentelijk al vastgesteld worden door Maes *et al.* (in press). Uit het model zien we dat de invloed van PCB's op het vetpercentage een tamelijk consistent verhaal vertelt waarbij vooral de hoger gechloreerde PCB's de grootste effecten veroorzaken.
De pesticiden endrin, HCHA en HCHG vertonen een dalende trend met de jaren terwijl er voor DDTPP en TNONA grote schommelingen optreden met een stijging in de periode 2003-2005. De daling is in overeenstemming met de verwachtingen sinds het verbod op de aanmaak en het gebruik van de pesticiden (1974 en 2002 respectievelijk). De sterke schommelingen en stijging zouden kunnen wijzen op een recente toepassing van DDTPP en TNONA en op het feit dat de stock dus nog steeds niet uitgeput is. Uit de analyse blijkt dat vooral de DDT-derivaten een negatieve invloed lijken te hebben op het vetgehalte. Mogelijke effecten van zware metalen op het vetpercentage lijken eerder beperkt te zijn. Toch melden Maes *et al.* (2005) een negatieve correlatie tussen vervuiling door zware metalen en de conditie. Onder laboratoriumomstandigheden stelden wetenschappers een verhoogd vetverbruik vast ten gevolge van cadmiumblootstelling (Pierron, 2007) of de insecticide fenitrothion (Sancho *et al.*, 1998) en bijgevolg een verminderde efficiëntie van de vetopslag. Uit de literatuurstudie weten we ook dat contaminanten een impact hebben op metabolische functies en gedrag. Ze kunnen de lipidogenese beïnvloeden en lipolysis induceren. De vetopstapeling kan onmogelijk gemaakt worden door verstoring van de thyroïd functie. Ceron *et al*. (1996) zagen dat de vetopstapeling was verstoord werd door de inhibitie van acetylcholinesterase activiteiten ten gevolg van blootstelling aan pesticiden. Ook van nieuwe stoffen zoals perfluor-componenten is geweten dat ze het vetmetabolisme beïnvloeden door veranderingen in de celeigenschappen bij vissen te veroorzaken (Hu *et al*., 2003). Van een grote range aan organische chemicaliën is geweten dat ze endocriene verstoring veroorzaken en zo indirect een invloed hebben op het vetpercentage.

VI.6. Toetsing literatuurwaarden aan resultaten van het VPPM

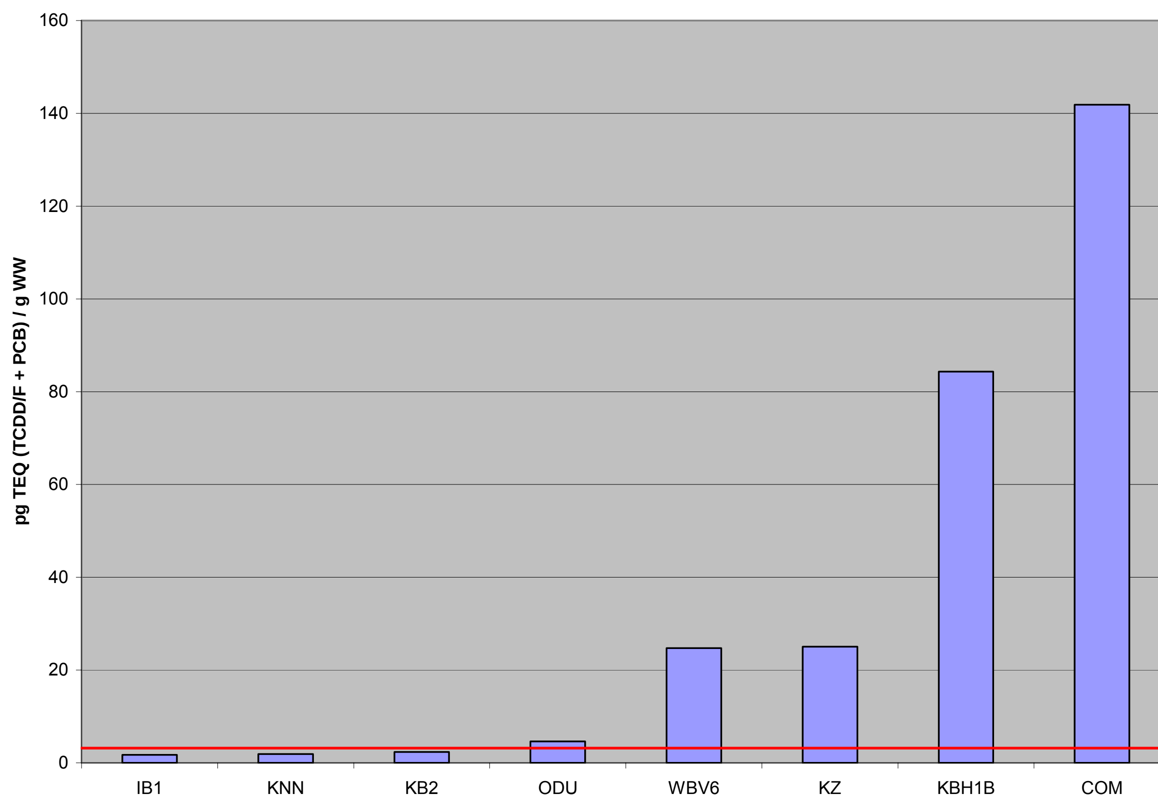
VI.6.1. Grenswaarde van vetpercentage voor succesvolle migratie

Zowel Boëtius & Boëtius (1980) als Palstra *et al*. (2006) stellen dat een wijfjes zilverpaling minimaal een vetpercentage van 20 à 21% nodig heeft om de migratie naar de Sargassozee en een hierop volgende succesvolle paai te kunnen volbrengen. In de veronderstelling dat de hoeveelheid vet niet spectaculair toeneemt bij de metamorfose van gele paling naar zilverpaling betekent dit voor Vlaanderen dat slechts 33% van de palingen groter dan 30 cm deze grenswaarde haalt. Indien we de minimale lengte optrekken van 30 naar 40 cm zien we slechts een lichte stijging optreden tot 36%. Indien we de minimale lengte verder optrekken tot 46 cm zien we ineens een duidelijke stijging, van het aantal palingen dat meer dan 20% vet heeft, tot 50%. Deze plotse stijging is meer dan waarschijnlijk te wijten aan het zo goed als enkel overblijven van wijfjes als je 46 cm als ondergrens neemt.
Dit zou betekenen dat van de wijfjes (>46 cm) die de Vlaamse binnenwateren verlaat om naar de Sargassozee te migreren, slechts de helft over voldoende vetvoorraden beschikt om effectief de migratie te kunnen uitvoeren en nog de noodzakelijke energie hebben voor de aanmaak van hun eitjes.

VI.6.2. *TEQ waarden: effecten op embryo overleving en ontwikkeling*

Palstra *et al*. (2006) vonden dat er vanaf 4 pg TEQ (PCDD's/PCDF's + PCB's)/g ww misvormingen van de embryo's tot een stop optreedt van de embryonale ontwikkeling. Dit is dus ver onder de sinds 2006 geldende norm voor paling van 12 pg TEQ (PCDD's/PCDF's + PCB's)/g ww.

Er zijn echter slechts van acht locaties in Vlaanderen gegevens beschikbaar over concentraties aan dioxine en dioxineachtige PCB's (DL-PCB's). Op vijf van deze acht locaties werden er concentraties van meer dan 4 pg waargenomen. De hoogste aangetroffen waarde was zelfs 35 maal hoger dan deze grenswaarde van 4 pg TEQ (PCDD's/PCDF's + PCB's)/g ww. Deze acht locaties zijn uiteraard slechts een zeer kleine steekproef. Om dit resultaat te staven hebben we de PCB-TEQ waarden berekend met de formule gegeven door de Boer *et al*. (1993) en dit vermenigvuldigd met 1,25 (om de totale TEQ te krijgen). Op 67% van de locaties werd een gemiddelde TEQ-waarde verkregen van minimaal 4 pg TEQ (PCDD's/PCDF's + PCB's)/g ww , dit resultaat is volledig in overeenstemming met de bekomen dioxine resultaten. Het betreft hier concentraties in spierweefsel van palingen, uit Palstra *et al*. (2006) blijkt dat concentraties in de gonaden hoger liggen dan in het spierweefsel.



Figuur 6.15: Concentraties aan dioxines, furanen en dioxineachtige PCB's in spierweefsel van paling (Vlaanderen 2001-2005). De rode lijn stelt de grens voor waarboven de embryonale ontwikkeling van paling sterk negatieve gevolgen ondervindt (4 pg TEQ(PCDD's/PCDF's + PCB's)/g ww).

VI.6.3. *Teratogene effecten door de aanwezigheid van selenium*

Lemly (1993) stelt verscheidene teratogene effecten vast bij vissen vanaf 40 µg/g dw, omgerekend komt dit ongeveer overeen met een concentratie van 13 µg/g ww. De hoogste concentraties in Vlaanderen liggen iets boven de 5 µg/g ww.

VI.6.4. Vibriose door hoge concentraties aan koper

Rødsæther *et al.* (1977) stelden vast dat er vibriose ontstond bij palingen met een concentratie van meer dan 30 µg/g ww. In Vlaanderen werden enkel in de Klaverbladvijver in Wachtebeke en op het Kanaal van Beverlo in Lommel palingen aangetroffen die boven deze waarden uitkwamen, de andere palingen zitten ruim onder deze grenswaarde.

VI.6.5. Effecten op predatoren van paling

Er wordt algemeen aanvaard dat bioaccumulerende polluenten en meer specifiek dieldrin, PCB's en kwik de hoofdoorzaak zijn van de snelle achteruitgang van de Europese otterpopulaties. Ter bescherming van otterpopulaties mogen de PCB-concentraties in vis 26 ng/g versgewicht niet overschrijden. PCB-concentraties van 50 ng/g versgewicht in het dieet van otters induceert over langere periode reproductieproblemen (Mason & MacDonald, 1993). Uit Goemans *et al*. (2003) bleek dat de gemiddelde PCB-concentraties in paling slechts op 9 van de 260 staalnameplaatsen (1994-2001) onder de maximaal toelaatbare concentratie voor een leefbare otterpopulatie bleef. Indien we de resultaten in beschouwing nemen van 2000 tot 2005 zien we een toename van het aantal leefbare plaatsen voor otters in Vlaanderen tot 16 van de 300 bemonsterde locaties. Dit is een stijging van 3,5% in 2001 tot 5,3% in 2005.

Lazorchak *et al*. (2003) hebben voor een aantal piscivore dieren 'Wildlife Values' (WV) berekend. Indien we hun WV voor otter bekijken op Vlaams niveau verkrijgen we toch een ietwat rooskleuriger beeld van de situatie in Vlaanderen. Indien we enkel de WV voor PCB's in beschouwing nemen (180 ng/g versgewicht) blijkt dat 134 locaties (45%) geschikt zijn voor een leefbare otter populatie. Als we ook de WV's voor dieldrin, endrin, kwik en DDT en zijn derivaten beschouwen blijken er nog 55 locaties (18%) over te blijven. Het is duidelijk dat er hier verder onderzoek noodzakelijk is om tot een eenduidig besluit te komen

Tabel 6.2: Wildlife values zoals berekend voor otter, nerts en ijsvogel door Lazorchak *et al*., 2003.

Contaminant	Detection limits	Wildlife values (mg/kg fish)		
		Otter	Mink	Kingfisher
Chlordane	0.002	1.14	0.83	0.0045
DDT and its metabolites	0.002	0.49	0.36	0.02
Dieldrin	0.002	0.03	0.02	0.36
Endrin	0.002	0.05	0.04	0.22
Mercury	0.0250	0.10	0.07	0.03
PCBs[a]	0.002	0.18	0.13	0.44

[a] Polychlorinated biphenyls.

DEEL III SAMENVATTING EN TOEKOMSTPERSPECTIEVEN

VII. Samenvatting

VII.1. Verontreinigende stoffen in paling

Sinds ca. 1980 wordt over bijna het ganse Europese continent een steile daling van de palingpopulaties waargenomen. Vanuit internationale adviesorganen wordt gesteld dat de soort zich momenteel buiten de biologische veiligheidsgrenzen bevindt (ICES, 2002). Het belang van de instandhouding van paling evenals de nood aan beheersmaatregelen wordt de laatste jaren dan ook steeds duidelijker en dringender voor wetenschappers en beleidsmensen. Er zijn tal van mogelijke oorzaken van deze achteruitgang zoals bv. visserijdruk, habitatverlies, migratiebarrières, verontreiniging en besmetting door parasieten of andere ziektefactoren maar ook vb. klimaatverandering en predatie. Tegenwoordig raken wetenschappers er ook steeds meer van overtuigd dat de kwaliteit van de paaidieren (de naar zee trekkende zilverpaling) een essentieel element kan zijn in de achteruitgang van de soort.
Recent onderzoek naar de aanwezigheid van verontreinigende stoffen in waterlopen in Europa heeft aangetoond dat vervuiling met dioxineachtige scheikundige stoffen, incluis de verboden PCB's nog steeds een grote impact heeft op de ontwikkeling en het voortplantingssucces van de Europese paling. Daarom is verder onderzoek naar de verspreiding van deze en andere organische persistente stoffen in Europa zeer belangrijk (Maes *et al*., in press.).

VII.2. Ecologische en ecotoxicologische effecten van verontreinigende stoffen in paling

Paling is door zijn bijzondere levenscyclus als soort zeer gevoelig voor de toxische effecten van verontreinigende stoffen. Deze effecten kunnen plaatsvinden op verschillende momenten in de levenscyclus: tijdens de opgroeifase, het verzilveren tot schieraal, de migratie, bij de aanmaak van de geslachtsproducten en de ontwikkeling van de larven. In de opgroeifase van paling zullen de effecten zich het minst doen gelden omdat verontreinigende stoffen in het vetweefsel opgeslagen worden. Hun invloed begint pas echt wanneer bij paling tal van morfologische veranderingen plaatsvinden onder invloed van hormonen, wanneer het dier verzilvert tot schieraal. Tijdens de migratie naar hun paaigebied in de Sargassozee, stopt paling met eten en teert op zijn vetvoorraad. Daarom is een goede fysiologische conditie van de zilverpalingen die onze riviersystemen verlaten een eerste vereiste voor een succesvolle migratie van de Europese wateren naar de voortplantingsgronden bij het Sargassozee. De energievoorraden moeten volstaan om de ±6000 km lange reis aan te kunnen en om volgroeide gonaden met een goede kwaliteit aan gameten te ontwikkelen. Tijdens deze tocht verbruiken palingen zo'n 60% van hun vetvoorraden (van Ginneken & van den Thillart, 2000). Dit betekent dat een gedeelte van de geaccumuleerde verontreinigende stoffen opnieuw beschikbaar wordt. Een continue vetverbranding betekent een continue beschikking over die stoffen en een (hoge) mate van toxiciteit in paling, ondanks dat een gedeelte opnieuw opgeslagen wordt in het overgebleven vetweefsel. Een dergelijke 'vergiftiging' leidt tot verstoringen van het immuunsysteem, het voortplantingssysteem, het zenuwstelsel en het endocrien systeem. Concreet betekent dit dat deze toxificatie leidt tot fysiologische verstoringen, verminderde endocriene stress respons en verminderde weerstand tegen infecties van virussen en parasieten, wat op zijn beurt weer leidt tot een verstoorde voortplanting en zelfs direct tot de dood van de paling. Verontreinigende stoffen kunnen dus een belangrijke rol spelen bij de achteruitgang van de soort.

De laatste jaren werden verschillende studies uitgevoerd naar de ecotoxicologische effecten van verontreinigende stoffen op paling. Tabellen 1 en2 in bijlage 1 geven een samenvattend overzicht van een aantal gevaarlijke stoffen, hun schadelijke concentraties en gevolgen voor paling en voor zijn predatoren. Een studie uitgevoerd De Boer *et al.* (1993) bracht aan het licht dat 85-90% van de toxische effecten van PCB's veroorzaakt wordt door de PCB's 126, 156 en 118, die het meest industriële toepassingen kent. Daarnaast werd eveneens door De Boer *et al.* (1994) aangetoond dat éénmaal PCB's geaccumuleerd zijn in palingweefsel de halfwaardetijden in de grootteorde van jaren liggen (1-4 jaren). Voor de hogere gechloreerde bifenylen (CB's; hexa-octa-CB's) werd er zelfs helemaal geen eliminatie aangetroffen, d.w.z. dat deze stoffen het organisme nooit meer verlaten. Andere resultaten wijzen op het feit dat gastheren (paling) die blootgesteld worden aan pollutie veel gemakkelijker geïnfecteerd kunnen geraken door parasieten dan hun niet gecontamineerde soortgenoten. De gevoeligheden voor verontreinigende stoffen en hun gevolgen zijn over het algemeen ook soort- en dosisafhankelijk dat wil zeggen dat de ene soort meer gevoelig is voor de toxiciteit van een bepaalde stof dan een andere soort. Er is al heel wat geweten over de invloed van verontreinigende stoffen op paling en predatoren maar er zijn ook nog veel onzekerheden. Zo is er weinig informatie beschikbaar over de exacte concentratie waarop een bepaalde stof toxisch wordt. Verder onderzoek is dus nog vereist.

VII.3. Statistische analyse van de data van het Vlaamse palingpolluentenmeetnet

Het is duidelijk dat verschillende contaminanten nadelige effecten op paling kunnen hebben. De dataset van het Vlaamse palingpolluentenmeetnet leent zich uitstekend om dit na te gaan. Ze omvat een set van variabelen van ca. 2400 palingen afkomstig van 356 meetplaatsen verspreid over Vlaanderen, een eerder beperkt gebied maar met een sterk variërende milieudruk. Van elke paling zijn zowel individuele morfometrische gegevens, locatiegegevens, als milieubelastinggegevens voorhanden. De gegevens betreffen gele palingen. We nemen aan dat de fitness van de gele paling in belangrijke mate ook de fitness van de mature zilverpaling zal meebepalen. In het opgestelde model wordt de fitness beoordeeld aan de hand van het vetgehalte van de paling enerzijds en aan de hand van de conditiefactor anderzijds. Hoe vetter de paling hoe beter zijn fitness en hoe hoger de conditiefactor (d.i. hoe hoger het gewicht bij een bepaalde lengte), hoe hoger zijn fitness. De globale trend tussen de conditiefactor en het vetgehalte is positief: hoe hoger het vetpercentage, hoe hoger de conditiefactor.

Eerst werd een basismodel opgesteld waarin zoveel mogelijk rekening gehouden werd met de achtergrondfactoren (palinglengte, periode (staalnamejaar), waterlooptype). Daarna is nagegaan in hoeverre de lichaamsvracht aan PCB's, pesticiden en zware metalen een rol speelt om het verschil in vetpercentages te verklaren. Bij lange afstand migratoren is het vetgehalte immers een essentiële parameter voor een normale levenscyclus. De wegtrekkende palingen zijn afhankelijk van de vetreserves die ze in hun opgroeifase in het zoet water opgebouwd hebben. De drempelwaarde voor een succesvolle migratie en reproductie is 20,7% vet (Van den Thillart *et al*., 2005). Als de vetreserves te laag zijn, kan dit een belangrijke impact hebben op het welslagen van de reproductie. Het gemiddelde vetgehalte in Vlaamse paling (1994-2005) bedraagt slecht 15,1%. Bovendien blijkt uit de dataset dat het vetpercentage de laatste 15 jaar afgenomen is van 21 naar 14%. Het is niet helemaal duidelijk wat de oorzaken zijn voor deze dalende trend al weten we zeker dat contaminanten een belangrijke rol spelen. We zien wel dat het vetgehalte verhoogt met de leeftijd en dat wijfjes geen afwijkende vetpercentages hebben. In de literatuur wordt immers door verschillende auteurs vermeld dat wijfjes lagere vetpercentages zouden hebben.

Het model heeft kunnen aantonen dat het vetgehalte van paling in belangrijke mate beïnvloed wordt door de typologie en door de bemonsteringsperiode. Palingen uit stilstaande waters en polderwaterlopen hebben het laagste vetgehalte, terwijl paling uit rivieren en zeker ook kanalen beduidend hogere vetgehaltes hebben.

We zien een daling van de PCB-concentraties in palingweefsel en we verwachten dat deze trend zich ook de komende jaren zal verder zetten. Ondanks het verbod op de productie van PCB's in 1986 ligt er in de (water)bodem en in het slib nog een erfenis, aangezien PCB's ruim 50 jaar zijn toegepast in industrie en techniek. En ook zijn er nog steeds transformatoren en condensatoren in gebruik die PCB's bevatten. De invloed van PCB's op het vetpercentage vertelt een tamelijk consistent verhaal waarbij vooral de hoger gechloreerde PCB's de grootste effecten veroorzaken.
De pesticiden endrin, HCHA en HCHG vertonen een dalende trend met de jaren terwijl er voor DDTPP en TNONA grote schommelingen optreden met een stijging in de periode 2003-2005. De daling is in overeenstemming met de verwachtingen sinds het verbod op de aanmaak en het gebruik van de pesticiden (1974 en 2002 respectievelijk). De sterke schommelingen en stijging zouden kunnen wijzen op een recente toepassing van DDTPP en TNONA en op het feit dat de stock dus nog steeds niet uitgeput is. Een negatief verband tussen het voorkomen van pesticiden en het vetgehalte kon aangetoond worden voor DDT.
In de concentraties aan zware metalen in palingweefsel is niet echt een trend terug te vinden. Dit heeft te maken met het beperkt aantal metingen dat verricht is voor deze stoffen. Mogelijke effecten van zware metalen op het vetpercentage lijken eerder beperkt te zijn. In de literatuur worden desalniettemin effecten vermeld. Zo wijzen Maes *et al.* (2005) bijvoorbeeld op een negatieve correlatie tussen vervuiling door zware metalen en de conditie.

VIII. Toekomstperspectieven

Hieronder willen we kort een beeld schetsen van de evoluties die wij verwachten bij het gebruik van paling als bio-indicator zowel nationaal als internationaal. Anderzijds verwachten wij met betrekking tot de ecotoxicologische betekenis van deze stoffen op de soort zelf ook een aantal nieuwe initiatieven en dit zowel op niveau van beleid als van onderzoek.

VIII.1. Paling als bio-indicator

Bio-indicator voor de toestand van verontreinigende stoffen in ons aquatisch milieu in de context van een ruime strategie.

Uit verschillende recente onderzoeken (Weltens *et al*., 2002; Belpaire & Goemans, 2007) blijkt dat in Vlaanderen, zeker voor een aantal lipofiele stoffen, de huidige meetstrategie onvoldoende is om onze aquatische habitatten en biota te beschermen. Voor verschillende stoffen is het meten in sediment of water onvoldoende geschikt om de toestand behoorlijk in beeld te brengen. Om een efficiënte meetstrategie te ontwikkelen is het belangrijk om een beter inzicht te verkrijgen in doorstroming en gedrag van de polluenten doorheen de verschillende compartimenten van ons ecosysteem (partitie modellen, biota/sediment relaties, …) voortbouwend op preliminair onderzoek door Weltens *et al*. (2002). Een efficiënte strategie zal wellicht moeten gebaseerd zijn op het meten in verschillende compartimenten, afhankelijk van het type stof. Uiteraard zal rekening gehouden moeten worden met de resultaten en aanbevelingen van de lopende studie "*Kwaliteitsvolle monitoring voor het beleid*" (Onkelinx *et al*., 2006).

Ook afstemming van de meetnetten in tijd en ruimte moet uiteraard een belangrijk onderdeel van deze nieuwe meetstrategie zijn. En er zal ook nood zijn aan de uitbouw van een normenstelsel in de verschillende compartimenten (ook voor biota) afhankelijk van het type stof.

Internationaal in de context van de Kaderrichtlijn Water

Dezelfde problematiek stelt zich momenteel op internationaal niveau in de context van de Kaderrichtlijn Water. De richtlijn vraagt een aantal milieuvervuilende stoffen regelmatig te monitoren. Momenteel hoofdzakelijk in het compartiment water. Slechts voor een zeer beperkt aantal van die stoffen gebiedt de richtlijn om de metingen in biota uit te voeren. Nochtans groeit ook hier het besef dat het opvolgen van sommige stoffen van de richtlijn best in biota gemeten worden. Enkele internationale werkgroepen hebben paling voorgesteld als een geschikte internationale biomonitor. Het gebruik van de Europese paling als bio-indicator zou inderdaad voor een groot deel van de EG gebied geschikt zijn. Momenteel worden er in heel wat landen inspanningen geleverd om na te gaan in welke mate bepaalde vervuilende stoffen zich in de paling opstapelen. Dit geldt voor 'klassieke' vervuilende stoffen zoals zware metalen, PCB's, bepaalde pesticiden, maar ook in toenemende mate voor nieuwe stoffen waarvan de toxische eigenschappen minder bekend zijn (vb. gebromeerde vlamvertragers, organische solventen, fluorverbindingen, …). Van een zeer groot aantal stoffen is echter quasi niets bekend met betrekking tot bioaccumulatie in biota. Het vormt een uitdaging om ook voor deze stoffen analytische technieken op punt te stellen.

Hieruit volgt dat in de toekomst de strategie en methodologie afgestemd en geharmoniseerd moeten worden. Ook in dit internationaal kader zal het dus nodig zijn om een meetstrategie te ontwikkelen,

methodieken te ontwikkelen en/of af te stemmen. Op korte of middellange termijn zullen onderzoeksprojecten of pilootprojecten hier een wetenschappelijke onderbouw aan dienen te geven.

Specifieke vervuilingsbronnen
Een aantal stoffen werden in hoge mate aangetroffen in gekende verontreinigde gebieden (vb. cadmium in paling van het Kanaal van Beverlo). Soms wezen metingen op minder gekende vervuilingproblemen (vb. hoge PCB-concentraties in de Congovaart en in de Visvijver van Weerde). Bepaalde vluchtige organische solventen werden op specifieke meetplaatsen in hoge concentraties aangetroffen. Gebromeerde vlamvertragers zijn extreem hoog in paling van de Schelde in de buurt van Oudenaarde. Het verdient aanbeveling dat er verder onderzoek gebeurt rond de gerichte opsporing van specifieke vervuiling, vervuilinghaarden en vervuilingsbronnen in Vlaanderen teneinde deze knelpunten op te lossen. Uiteraard dient dit onderzoek te gebeuren in overleg en in samenwerking met de specifieke diensten van de Vlaamse overheid (o.a. milieu-inspectie, waterkwaliteitsbeheerder, …).

Evaluatie van beleidsmaatregelen, follow-up
Ook in het evaluatiebeleid van saneringsmaatregelen is het opvolgen van de toestand van de vervuilende stoffen een efficiënt instrument. De efficiëntie van de sanering van vervuilde waterbodems (cf. saneringsproject voor de waterbodems van de Dommel) zal meetbaar worden door de evolutie van deze stoffen op te volgen. Ook het regelgevingbeleid kan opgevolgd worden: zo heeft het verbod van het gebruik van lindaan in 2002 geleid tot een dalende trend in de concentraties gemeten in paling. Het recente gebruik van DDT is aangetoond door metingen van de verschillende derivaten in paling en leidt momenteel tot een sensibilisatieactie naar de bevolking.

Koppeling met humane gezondheid
Het palingpolluentenmeetnet is relatief gebiedsdekkend voor Vlaanderen en accumulatiegegevens in paling geven een indicatie van de milieudruk (voor specifieke vervuilende stoffen) op die plaats. Het is dan ook bijzonder zinvol de databank palinggegevens te koppelen aan humane epidemiologische gegevens. Daarom werd de palingpolluentendatabank opgenomen in de kruisdatabank van het Steunpunt Milieu en Gezondheid. Dit vormt dan ook een basis voor verder analyses met als doel het beter in beeld brengen van de impact van milieudruk op humane ziekte-incidentie. Samenwerking en overleg met het Steunpunt Milieu en Gezondheid is hier rond uiteraard noodzakelijk.
Anderzijds kan de vervuiling in paling ook rechtstreeks oorzaak zijn van humane risico's op ziektes of opstapeling van vervuilende stoffen in de mens. Paling wordt in Vlaanderen culinair strek geapprecieerd, maar is op veel plaatsen heel zwaar vervuild. Via hun consumptiegedrag vormen sportvissers een risicogroep. Verder onderzoek hierrond verdient in de toekomst zeker aanbeveling.

VIII.2. Ecotoxicologische impact op de soort

Uiteraard is het noodzakelijk om ook de effecten van deze stoffen op het organisme zelf beter te kennen. Dit rapport poogt een samenvatting van de bestaande kennis weer te geven. De studies zijn vaak fragmentarisch, ze illustreren hoe een bepaalde stof een bepaald fysiologisch proces beïnvloedt. Holistisch gerichte onderzoeken naar de effecten op de reproductie van paling zijn schaars en worden bemoeilijkt door de specifieke reproductieve eigenschappen van de soort. In die zin zijn de resultaten van het EELREP-team vernieuwend en bieden ze perspectief voor verder onderzoek.
De achteruitgang van de paling staat momenteel internationaal onder de aandacht. Over de factoren die een rol kunnen spelen bestaat weinig wetenschappelijke onderbouwing. Maar mogelijk spelen

vervuilende stoffen een rol via hun verstorend effect op de reproductie. PCB-vervuiling in vrouwelijke palingen lijkt een vervorming van de larven te induceren (EELREP, Van den Thillart *et al*., 2005). Het is dan ook te verwachten dat dit onderzoek verder impuls zal krijgen:

- In welke mate stapelen nieuwe stoffen zich op in paling (en andere biota)?
- Wat is de impact van die stoffen op fysiologische en endocrinologische processen en performanties, maar ook algemeen op de reproductie?
- Over de synergetisch werking van contaminant cocktails is zeer weinig bekend. Ook hier is onderzoek wenselijk.
- In welke mate heeft vervuiling een impact op de neutrale en adaptieve genetische structuur van de populatie?
- Onderzoek naar technieken/indicatoren om de gezondheid van populaties te screenen (vb. via bioassays, genexpressie, proteomics, zie ook Snape *et al*. (2004)). Dit niet alleen in het kader van de effecten op de soort maar ook als biomonitor om de gezondheid van onze rivieren in beeld te brengen.
- Gezien de mogelijke rol van deze stoffen op de achteruitgang van de soort is het nodig dat de kwaliteit van de wegtrekkende zilverpaling op Europees niveau in kaart gebracht wordt.

REFERENTIELIJST

3M Company, 2002. Perfluorooctanesulfonate, potassium salt (PFOS): 96-hour semi-static acute toxicity test with the sheepshead minnow (*Cyprinodon variegatus*) in saltwater. 3M Company, St Paul, MN, USA.

Adam, G., 1997. L'anguille européenne (*Anguilla anguilla* L. 1758) : dynamique de la sous-populations du lac de Grand-Lieu en relation avec les facteurs environnementaux et anthropiques. PhD dissertation, University de Toulouse 3, France.

Addison, R.F., M.E. Zinck & D.E. Willis, 1978. Induction of hepatic mixed-function oxydase (MFO) enzymes in trout *Salvelinus fontinalis* by feeding Aroclor 1354 or 3-methyl-cholanthrene. Comparative Biochemistry and Physiology 61C: 323-325.

Agradi, E., R. Baga, F. Cillo, S. Ceradini & D. Heltai, 2000. Environnemental contaminants and biochemical response in eel exposed to Po river water. Chemosphere 41 : 1555-1562.

Ahlborg, U.G., A. Hanberg & K. Kenne, 1992. Risk assessment of polychlorinated biphenyls (PCBs). NORD. Copenhagen, Denmark: Nordic Council of Ministers.

Ahmad, N., D. Benoit, L. Brooke, D. Call, A. Carlson, D. DeFoe, J. Huot, A. Moriarity, J. Richter, P. Shubat, G. Veith & C. Wallbridge, 1984. Aquatic toxicity tests to characterize the hazard of volatile organic chemicals in water: a toxicity data summary. Parts I and II. Environmental Research Laboratory, Office of Research and Development, U.S. Environmental Protection Agency, Duluth, Minnesota.

Ahmad I, M. Oliveira, M. Pacheco & M.A. Santos, 2005. *Anguilla anguilla* L. oxidative stress biomarkers responses to copper exposure with or without beta-naphthoflavone pre-exposure. Chemospere 61(2): 267-275.

Ahmad, I., M.V.L. Oliveira, M. Pacheco & M.A. Santos, 2006. Oxidative stress and genotoxic effects in gill and kidney of *Anguilla anguilla* L. exposed to chromium with or without pre-exposure to beta-naphthoflavone. Mutatation Research 608(1): 16-28.

Akaishi, F.M., H.C. Silva de Assis, S.C.G. Jakobi, S. St. Jean, S.C. Couternay, E. Lima, A.L.R. Wagner, A. Scofield & C.A. Oliveira Ribeiro, 2004. Morphological and neurotoxicological findings in tropical freshwater fish (*Astyanax* sp.) after waterborne and acute exposure to water soluble fraction (WSF) of crude oil. Archives of Environmental Contamination and Toxicology 46: 244–253.

Akay, M.T. & U. Alp, 1981. The effects of BHC and heptachlor on mice. Hacettepe Bull. Nat. Sci. Eng. 10: 11–22.

Allchin, C.R., R.J. Law & S. Morris, 1999. Polybrominated diphenylethers in sediments and biota downstream of potential sources in the UK. Environmental Pollution 105: 197–207.

Allen, Y., A.P. Scott, P. Matthiessen, S. Haworth, J.E. Thain & S. Feist, 1999. Survey of estrogenic activity in United Kingdom estuarine and coastal waters and its effects on gonadal development of the flounder *Platichthys flesus*. Environmental Toxicology and Chemistry 18(8): 1791–1800.

Allner, B., G. Wegener, T. Knacker & P., Stahlschmidt-Allner, 1999. Electrophoretic determination of estrogen-induced protein in fish exposed to synthetic and naturally occurring chemicals. The Science of the Total Environment 233(1–3): 21–31.

Amiard-Triquet, C., J.C. Amiard, A.C. Andersen, A.C. Elie & P. Metayer, 1987. The eel (*Anguilla anguilla*) as a bioindicator of metal pollution: factors limiting its use. Water Science and Technology 19: 1229-1232.

Anderson, T. A., J. J. Beauchamp & B. T. Walton, 1991. Degradation of a mixture of volatile and semi-volatile organic chemicals in soil. Journal of Environmental Quality, 20: 420–424.

Andersson, T. & L. Forlin, 1992. Regulation of the cytochrome P450 enzyme system in fish. Aquatic Toxicology 24: 1-10.

Ankarberg, E., R. Bjerselius, M. Aune, P.O. Darnerud, L. Larsson, A. Andersson, M. Tysklind, S. Bergek, K. Lundstedt-Enkel, L. Karlsson, A. Törnkvist & Glynn, A. 2004. Study of dioxin and dioxin-like PCB levels in fatty fish from Sweden 2000-2002. Organohalogen Compounds 66: 2061-65.

Ankley, G.T., V.S. Blazer, R.E. Reinert & M. Agosin, 1986. Effects of Aroclor 1254 on cytochrome P450-dependent monooxygenase, glutathione-S-transferase, glucuronosyltransferase activities in channel catfish liver. Aquatic Toxicology 9: 91-103.

Anonymous, 2003a. Worldwide decline of eel resources necessitates immediate action. Fisheries 28: 28-30.

Anonymous, 2003b. Waterkwaliteit – Lozingen in het water 2003 (uitgebreid rapport). Vlaamse Milieumaatschappij, Aalst.

Arkoosh, M.R., E. Cassillas, E. Clemons, B. McCain & U. Varanasi, 1991. Suppression of immunological memory in juvenile Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) from an urban estuary. Fish & Shellfish Immunology 1: 261-278.

Arkoosh, E. Clemons, M. Myers & E. Cassillas, 1994. Suppression of B-cell immunity in juvenile Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) after exposure to either polycyclic aromatic hydrocarbon or to polychlorinated biphenyls. Immunopharmacology and Immunotoxicology 16: 293-314.

Aoyama, J., S. Sasai, M.J. Miller, A. Shinoda, A. Nakamura, K. Kawazu & K. Tsukamoto, 2002. A preliminary study of the movements of yellow and silver eels, *Anguilla japonica*, in the estuary of the Fukui River, Japan, as revealed by acoustic tracking. Hydrobiologia 470: 31-36.

ATSDR, 1992. Data from the US Agency for Toxic Substances and Disease Registry at http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/phs36.html.

ATSDR, 1999. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, US Department of Health and Human Services, Public Health Service, Toxicological profile for lead. In: ATSDR's Toxicological Profile on CD-ROM, version 4:1, 2001. Chapmann and Hall/CRC, Londen, VK.

Azzalis, L.A., V.B.C. Junqueira & K. Simon, 1995. Prooxidant and antioxidant hepatic factors in rats chronically fed an ethanol regimen and treated with an acute dose of lindane. Free Radical Biology and Medicin 19: 147–159.

Baisez, A., C. Rigaud & E. Feunteun, 2000. Heterogenity of the European eel distribution (*Anguilla anguilla*) observed by electric fishing in a reclaimed marsh of the French Atlantic coast (Marais Breton). Cybium 34: 23-32.

Baisez, A., 2001. Optimisation des suivis des indices d'abondances et des structures de taille de l'anguille européenne (*Anguilla anguilla* L.) dans un marais endigué de la côte Atlantique : relations espèce-habitat. PhD dissertation, University of Toulouse 3, France.

Bakker, M., B.J. Baars, B. Baumann, P. Boon & R. Hoogerbrugge, 2003. Indicator PCBs in foodstuffs: occurrence and dietary intake in The Netherlands at the end of the 20th century. RIVM Report number: 639102025, RIVM; RIKILT, Bilthoven, The Netherlands.

Bal, W. & K.S. Kasparzak, 2002. Induction of oxidative DNA damage by carcinogenic metals. Toxicology Methods 127: 55–62.

Baldwin, D.R.& W.J. Marshall, 1999. Heavy metal poisoning and its laboratory investigation Annals of Clinical Biochemistry 36: 267-300.

Baras E., D. Jeandrain, B. Serouge & J.C. Philippart, 1998. Seasonal variations in time and space utilization by radiotagged yellow eels *Anguilla anguilla* (L.) in a small stream. Hydrobiologia 371/372: 187–198.

Barron, M.G., H. Galbraith & D. Beltman, 1995. Comparative reproductive and developmental toxicology of PCBs in birds. Comparative Biochemistry and Physiology 112: 1-14.

Barton, B.A. & G.K. Iwama, 1976. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. Annual Review of Fish Diseases 1: 3-26.

Barton, B.A., C.B. Schreck & L.D. Barton, 1987. Effects of chronic cortisol administration and daily acute stress on growth, physiological conditions, and stress responses in juvenile rainbow trout. Diseases of Aquatic Organisms 2: 173-185.

Batty, J., D. Pain & F. Caurant, 1996. Metal concentrations in eels *Anguilla anguilla* from the Camargue region of France. Biological Conservation 76: 17–23.

Baudin, J.P., 1981. Bilan du zinc 65 absorbé par voie trophique chez *Anguilla anguilla* L.. Annales de Limnologie 17: 181-191.

Bayens W. & L. Goeyens, 1998. Hormoonontregelende stoffen in het leefmilieu. Studie in opdracht van Ministerie van Sociale Zaken, Volksgezondheid en Leefmilieu.

Beentjes, M.P. & D.J. Jellyman, 2003. Enhanced growth of longfin eels, *Anguilla dieffenbachii*, transplanted into Lake Hawea, a high country lake in South Island, New Zealand. New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research 37: 1–11.

Belgisch Staatsblad, 2002. Koninklijk Besluit tot wijziging van het Koninklijk Besluit van 19 mei 2000 tot vaststelling van maximale gehaltes aan dioxines en polygechloreerde bifenylen in sommige voedingsmiddelen, Belgisch Staatsblad 16 april 2002.

Belpaire, C., H. Van Driessche, F.Y. Gao & F. Ollevier, 1992. Food and feeding activity of glasseel *Anguilla anguilla* (L.) stocked in earthen ponds. Irish Fisheries Investigations, Series A (Freshwater), 36: 43-54.

Belpaire, C., G. Van Thuyne, S. Callaars., P. Roose, K. Cooreman & P. Bossier, 1999. Spatial and temporal variation in organochlorine pesticide and polychlorinated biphenyl pollution in freshwater aquatic ecosystems in Flanders using the European eel (*Anguilla anguilla* L.) as an indicator. EIFAC/ICES, Working Group on Eel, Silkeborg (DK), 20-25 Septembre 1999.

Belpaire, C., G. Goemans & W. De Cooman, 2002. Hoge meetwaarden van vlamvertragers in paling en sediment van waterlopen in het Scheldebekken. Vertrouwelijke nota voor Vera Dua, Vlaams minister van Leefmilieu Instituut voor Bosbouw en Wildbeheer en Vlaamse Milieumaatschappij September 2002 IBW.Wb.V.Adv.2002.092.

Belpaire, C. & G. Goemans, 2004. Monitoring en normering van milieugevaarlijke stoffen in paling: bruikbaarheid en relevantie voor het milieubeleid. Water dec 2004: 1-16.

Belpaire C. & G. Goemans, 2007. Eels: contaminant cocktails pinpointing environmental pollution. ICES Journal of Marine Science 64: 1-14.

Bengtsson, B-E., 1980. Long-term effects of PCBs (Clophen A50) on growth, reproduction and swimming performance in the minnow, *Phoxinus phoxinus*. Water Research 14: 681-687.

Berckmans, P., H. Witters, G. Goemans, J. Maes & C. Belpaire, 2007. Ondersteunend studiewerk en verdere karakterisatie van de Vlaamse toestand inzake hormoonverstoring: vraagstelling inzake ecologische relevantie. Studie uitgevoerd in opdracht van VMM door Vlaamse Instelling voor Technologisch Onderzoek, Mol, VITO rapport n° 2007/TOX/R071 en in smaenwerking met het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek, Brussel, INBO rapport R.2007.37 en depot nr. D/2007/3241/040.

Bergersen, R. & A. Klemetsen, 1988. Freshwater eel *Anguilla anguilla* (L.) from north Norway, with emphasis on occurrence, food, age, and downstream migration. Nordic Journal of Freshwater Research 64: 54-66.

Bervoets, L., G. Knaepkens, M. Eens & R. Blust, 2005. Fish community responses to metal pollution, Environmental Pollution 138: 338-349.

Bilau, M., I. Sioen, C. Matthys, A. De Vocht, G. Goemans, C. Belpaire, J.H. Willems & S. De Henauw, in prep. Polychlorinated biphenyl (PCB) exposure through eel consumption in recreation fishermens as compared to the general population, using a probabilistic approach.

Binder, R.L. & J.J. Stegeman, 1980. Induction of aryl hydrocarbon hydroxylase activity in embryos of an estuarine fish. Biochemical Pharmacology 29: 949-951.

Birchall, J.D., C. Exley, J.S. Chappell & M.J. Phillips, 1989. Acute toxicity of aluminium to fish eliminated in silicon-rich acid waters. Nature 338: 146 – 148.

Birnbaum, L.S., 1994. The mechanism of dioxin toxicity: relationship to risk assessment. environmental Health Perspectives 102: 157-167.

Black, J.A., W.J. Birge, W.E. McDonnell, A.G. Westerman, B.A. Ramey & D.M. Bruser, 1982. The aquatic toxicity of organic compounds to embryo-larval stages of fish and amphibians. Research Report No. 133. Water Resources Research Institute, University of Kentucky, Lexington, Kentucky, p. 61.

Bligh, E.G. & W.J. Dyer, 1959. A rapid method for total lipid extraction and purification. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology 37: 911-917.

Blus, L.J., 1996. DDT, DDD, and DDE in birds. In: Beyer, N.W., G.H. Heinz & A.W. Redmond-Norwood (eds.). Environmental Contaminants in Wildlife: Interpreting Tissue Concentrations. SETAC Special Publication Series. CRC Press, New York, pp. 49-71.

Boening, D.W., 2000. Ecological effects, transport, and fate of mercury: a general review. Chemosphere 40: 1335-1351.

Boëtius, J. & I. Boëtius, 1980. Experimental maturation of female silver eels, *Anguilla anguilla*. Estimates of fecundity and energy reserves for migration and spawning. Dana 1: 1-28.

Bondy, G., C. Armstrong, L. Coady, J. Doucet, P. Robertson, M. Feeley & M. Barker, 2003. Toxicity of the chlordane metabolite oxychlordane in female rats: clinical and histopathological changes. Food and Cosmetics Toxicology 41: 291–301.

Bossi, R., F.F. Riget, R. Dietz, C. Sonne, P. Fauser, M. Dam & K. Vorkamp, 2005. Preliminary screening of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and other fluorochemicals in fish, birds and marine mammals from Greenland and the Faroe Islands. Environmental Pollution 136: 323-329.

Bosveld, A.T.C. & M. van den Berg, 1994. Effects of polychlorinated biphenyls, dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans on fish-eating birds. Environmental Review 2: 147-166.

Bouquegneau, J.M. & A. Distèche, 1973. Two examples of physiological effects of mercury on fish. Publicatie van het Instituut voor Wetenschappen van het Leefmilieu. Meeting Brussel Novermber 21: 85-93.

Bouquegneau, J.M., 1977. ATPase activiy in mercury intoxicated eels. Experientia 33: 941-942.

Bouquegneau, J.M., 1973. Etude de l'intoxication par le mercure d'un poisson téléostéen *Anguilla anguilla* I: Effets sur l'osmorégulation. Bulletin de la Société Royale de la Science de Liège 9-10: 447-455.

Bradley, R.W., C. DuQuesnay & J.B. Sprague, 1985. Acclimation of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson to zinc: kinetics and mechanisms of enhanced tolerance induction. Journal of Fish Biology 27: 367-379.

Braunbeck, T. & S. Appelbaum, 1999. Ultrastructural alterations in the liver and intestine of carp *Cyprinus carpio* induced orally by ultra-low doses of endosulfan. Diseases of Aquatic Organisms. 36: 183–200.

Bressa G., P. Bronzi, P. Romano & E. Sisti. 1995. Chlorinated pesticides and PCBs in wild and farmed eels (*Anguilla anguilla* L): Influence of water temperature and diet. AgroFood Industry Hi-Tech November/December, 46–48 pp.

Bressa, G., E. Sisti & F. Cima, 1997. PCBs and organochlorinated pesticides in eel (*Anguilla anguilla* L.) from the Po Delta. Marine Chemistry, 58: 261–266.

Brion, F., J.M., Porcher, E. Thybaud & E., Vindimian, 1998. Polluants toxiques: les hormones dans tous leurs états. Biofutur 177: 35-37.

Broekhuizen, S., 1989. Belasting van otters met zware metalen en PCB's. De Levende Natuur 90: 43-47.

Brouwer, A., 1987. Interference of 3,4,3,4-tetrachlorobiphenyl in vitamin A (retinoids) metabolism: possible implications for toxicity and carcinogenicity of polyhalogenated aromatic hydrocarbons. Academic thesis University of Leiden, The Netherlands. Meppel, The Netherlands: Kripps Repro, p. 243.

Brouwer, A., P.J.H. Reijnders & J.H. Koeman, 1989. Polychlorinated biphenyls (PCB)-contaminated fish induces vitamin A and thyroid hormone deficiency in the common seal (*Phoca vitulina*). Aquatic Toxicology 15: 99-106.

Brouwer, A., A.J. Murk & J.H. Koeman, 1990. Biochemical and physiological approaches in ecotoxicology. Functional Ecology 4: 275-281.

Brouwer, A., D.C. Morse, M.C. Lans, A.G. Schuur, A.J. Murk, E. Klasson-Wehler, Å. Bergman, f& T.J. Visser, 1998. Interactions of persistent environmental organhalogens with the thyroid hormone system: mechanisms and possible consequences for animal and human health. Toxicology and Industrial Health 14: 59-84.

Brown, C.L., S.L. Doroshov, M.D. Cochran & H.A. Bern, 1989. Enhanced survival in swiped fingerlings after maternal triiodothyronine treatment. Fish Physiology and Biochemistry 7: 295.

Brown, J.S. & S.A. Steinert, 2004. DNA damage and biliary PAH metabolites in flatfish from Southern California bays and harbors, and the Channel Islands. Ecol. Ind. 3: 263–274.

Bruggeman, W.A., A. Opperhuizen, A. Wijbenga & O. Hutzinger, 1984. Bioaccumulation of super-lipophilic chemicals in fish. Toxicological and Environmental Chemistry 7: 173-89.

Bruijs, M., R. Lock & V. van Ginneken, 2002. Bedreigen PCB's de levenscyclus van de paling? Aquacultuur 1: 16-20.

Brunström, B., H. Hakansson & K. Lundberg, 1991. Effects of a technical PCB preparation and fractions thereof on ethoxyresorufin O-deethylase activity, vitamin A levels and thymic development in the Mink (*Mustela vison*). Pharmacology and Toxicology, 69: 421-426.

Bruslé, J., 1987. Eel and pollutants: a general review of the effects of heavy metals. European Inland Fishery Advisory Commission (FAO), Eel Working Group, Bristol, April 1987.

Bruslé, J., 1989. Effects of heavy metals on eels, *Anguilla* sp. Aquatic Living Resources 3: 131-141.

BSEF, Bromine Science and Environmental Forum, 2000. http://www.bsef.com.

Buckley, J.T., M. Roch, J.A. McCarter, C.A. Rendell & A.T. Matheson, 1982. Chronic exposure of coho salmon to sublethal concentrations of copper, and on copper tolerance. Comparative Biochemistry and Physiology 72C: 15-19.

Burger, J. & M. Gochfeld, 1985. Early postnatal lead exposure: Behavioral effects in common tern chicks (*Sterna hirundo).* Journal of Toxicology and Environmental Health 16: 869-886.

Burger, J. & M. Gochfeld, 1988. Lead and behavioral development: Effects of varying dosage and schedule on survival and performance of young common terns (*Sterna hirundo*). Journal of Toxicology and Environmental Health 24: 173-182.

Burger, J., K. Viscido & M. Gochfeld, 1995. Eggshell thickness in marine birds in the New York Bight--1970s to 1990s. Archieves of Environmental Contamination and Toxicology 29: 187-191.

Bury, N.R., F.B. Eddy & G.A Codd, 1996. Stress responses of brown trout, *Salmo trutta* L. to the Cyanobacterium *Microcystis auruginosa*. Environmental Toxicology and Water Quality 11: 187-196.

Burzawa-Gerard, E. & A., Dumas-Vidal, 1991. Effects of 17β-estradiol and carp gonadotropin on vitellogenesis in normal and hypophysectomized European silver female eel (*Anguilla anguilla* L.) employing a homologous radioimmunoassay for vitellogenin. General and Comparative Endocrinology 84(2): 264–276.

Bushnell, P.G., M. Nikinma & M. Oikari, 1985. Metabolic effects of dehydroabietic acid on rainbow trout erythrocytes. Comparative Biochemistry and Physiology C81: 391-394.

Calow, P., 1991. Physiological costs of combating chemical toxicants: ecological implications. Comparative Biochemistry and Physiology 100C(1/2): 3-6.

Castonguay, M., J.D. Dutil & C. Desjardins, 1989. Distinction between American eels (*Anguilla rostrata*) of different geographic origins on the basis of their organochlorine contaminant levels. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science 46: 836-843.

Caubergs, R., C. Thoen & A. Van der Auwaert, 1999. Pseudo-hormonen fictief of realiteit? Tijdschrift MENS 4: 3-15.

CEC, 2006a. Commission Regulation (EC) 199/2006 of 3 February 2006 amending Regulation (EC) No 466/2001 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs as regards dioxins and dioxin-like PCBs. Official Journal of the European Commission 04.02.2006 L 32/34.

CEC, 2006b. Proposal for a Directive of the European parliament and of the Council on environmental quality standards in the field of water policy and amending Directive 2000/60/EC (presented by the Commission) {COM(2006) 398 final}{SEC(2006) 947} Commission of the European Communities, Brussels, 17.7.2006. COM(2006) 397 final 2006/0129 (COD).

Ceron, J.J., M.D. Ferrando, E. Sancho, C. Gutierrez-Panizo & E. Andreu-Moliner, 1996. Effects of diazinon exposure on cholinesterase activity in different tissues of European eel (*Anguilla anguilla*). Ecotoxicology and Environmental Safety 35: 222-225.

Chan, D.K.O. & N.Y.S. Woo, 1978. Effects of cortisol on the metabolism of the eel, *Anguilla japonica*. General and Comparative Endocrinology 35: 205-215.

Chanin, P.R. & D.J. Jeffries, 1978. The decline of the otter *Lutra lutra* L. in Britain: An analysis of hunting records and discussion of causes. Biological Journal of the Linnean Society 10: 305-328.

Clarkson, T.W., 1995. Environmental contaminants in the food chain. American Journal of Clinical Nutrition 61S: 682–686.

Collvin, L., 1984. Uptake of copper on maximum respiration rate and growth rate of perch, *Perca fluviatilis* L. Water Resources 18: 139-144.

Cooke, A.S., A.A. Bell & M.B. Haas, 1982. Predatory Birds, Pesticides and Pollution. Institute of Terrestrial Ecology, Huntingdon.

Copeland, P.A., J.P. Sumpter, T.K. Walker & M. Croft, 1986. Vitellogenin levels in male and female rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) at various stages of the reproductive cycle. Comparative Biochemistry and Physiology B Biochemistry and Molecular Biology 83(2): 487–493.

Corsi I., M. Mariottini, A. Badesso, T. Caruso, N. Borghesi, S. Bonacci, A. Iacocca, S. Focardi, 2005. Contamination and sub-lethal toxicological effects of persistent organic pollutants in the European eel (*Anguilla anguilla*) in the Orbetello lagoon (Tuscany, Italy). Hydrobiologia 550: 237–249.

Couch, J.A., 1975. Histopathological effects of pesticides and related chemicals on the livers of fishes. In: The Pathology of Fishes (W.E. Ribelin & G. Magaki, eds.). University of Wisconsin Press, Madison, W.I.P.: 585-612.

Crookes, M. J., S. Dobson & P. D. Howe, 1993. Environmental hazard assessment: Xylenes. Toxic Substances Divison, Department of the Environment, London, UK, TSD/12, p. 57.

Cumbie, P.M. & S.L. Van Horn, 1978. Selenium accumulation associated with fish mortality and reproductive failure. Proceedings of the Annual Conference of the Southeastern Association of Fish and Wildlife Agencies 32: 612-624.

Custer, T.W., R.M. Erwin & C. Stafford, 1983. Organochlorine residues on common tern eggs from nine Atlantic Coast colonies. Colonial Waterbirds 6:197-204.

Custer, T.W., J.C. Franson, J.F. Moore & J.E. Myers, 1986. Reproductive success and heavy metal contamination in Rhode Island common terns. Environmental Pollution Series A41: 33-52.

Cyr, D.G. & J.G. Eales, 1988. In vitro effects of thyroid hormones on gonadotropin-induced estradiol-17β, secretion by ovarian follicles of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. General and Comparative Endocrinology 69: 80.

Daenens, P. & J. Tygat, 1995. Toxicologie, deel II (cursustekst 1995-1996). K.U.Leuven, Faculteit Farmaceutische Wetenschappen, Leuven, België.

Damek-Proprawa, M. & K. Sawicka-Kapusta, 2003. Damage to the liver; kidney and testis with reference to burden of heavy metals in yellow-necked mice from areas around steelworks and zinc smelters in Poland. Toxicology 186: 1–10.

Damstra, T., S. Barlow, A. Bergman, R. Kavlock & G. Van Der Kraak, 2002. Global Assessment of the State-of-the-science of Endocrine Disruptors. WHO-ILO-UNEP.

Darnerud, P.O. & A. Thuvander, 1998. Studies on immunological effects of polybrominated diphenyl ethers (PBDE) and polychlorinated biphenyls (PCB) exposure in rats and mice. Organohalogen Compounds 35: 415-418.

Das, K., V. Debaker, & J. M. Bouquegneau, 2000. Metallothioneins in marine mammals. Cellular and Molecular Biology 46: 283-194.

Dave, G., M-L. Johannsson-Sjöbeck, Å. Larsson, K. Lewander & U. Lidman, 1979. Effects of cortisol on the fatty acid composition of the total blood plasma lipids in the European eel, *Anguilla anguilla* L. Comparative Biochemistry and Physiology 64A: 37-40.

Davis, K.B., P. Torrance, N.C. Parker & M.A. Shuttle, 1985. Growth, body composition and hepatic tyronsine aminotransferase activity in cortisol-fed channel catfish, *Ictalurus punctatus*. Journal of Fish Biology 29: 177-184.

de Boer, J., C.J.N. Traag, W.A. Stronck & J. van der Meer, 1993. Non-ortho and mono-ortho substituted chlorobiphenyls and chlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in marine and freshwater fish and shellfish from the Netherlands. Chemosphere 26(10): 1823-1842.

de Boer, J. & U.A.T. Brinkman, 1994. The use of fish as biomonitors for the determination of contamination of the aquatic environment by persistent organochlorine compounds. Trends in Analytical Chemistry 13: 397-404.

de Boer, J. & P. Hagel, 1994. Spatial differences and temporal trends of chlorobiphenyls in yellow eel (*Anguilla anguilla*) from inland waters in the Netherlands. Science of the Total Environment 141: 155-174.

de Boer, J., F. van de Valk, M.A.T. Kerkhoff, P. Hagel & U.A.Th. Brinkman, 1994. 8-Year study on the elimination of PCBs and other organochlorine compounds from eel (*Anguilla anguilla*) under natural conditions. Environmental Science and Technology 28(13): 2242-2248.

de Boer, J., P.G. Wester, D. Pastor i Rodriquez, W.E. Lewis & J.P. Boon, 1998. Polybrominated biphenyls and diphenylethers in sperm of whales and other marine mammals – a new threat to ocean life? Organohalogen Compounds 35: 383–386.

de Boer, J., H. Pieters & S. van Leeuwen, 2000. Verontreinigingen in aal en snoekbaars: monitoring-programma ten behoeven van de Nederlandse sportvisserij 1999. RIVO (rapport C048/00), IJmuiden.

de Boer, J., J. Aldridge, C. Allchin, M. Benett, J.P. Boon, S.H. Brandsma, J.M. van Hesselingen, R.J. Law, W. Lewis, S. Morris, M.R. Tjoen-A-Choy & B. Zegers, 2001. Polybrominated diphenylethers in the aquatic environment. RIVO Netherlands Institute for Fisheries Research, report nr. C023/01.

De Bont, R. & N. Van Larebeke, 2002. Pro-actief rapport gezondheidseffecten van gebromeerde vlamvertragers. Steunpunt beleidsrelevant onderzoek, milieu en gezondheid.

De Bont, R., N. van Larebeke & G. Schoeters, 2004. Gezondheidseffecten van perfluoroctaansulfonaat (PFOS) en perfluoroctaanzuur (PFOA). Steunpunt beleidsrelevant onderzoek, milieu en gezondheid.

De Cooman, W., H. Maeckelberghe, G. Vos, S. De Corte, M. Van Erdeghem & P. Van Wauwe, 2002. Kwaliteit oppervlaktewater. In: Van Steertegem, M. (Ed.), Milieu- en natuurrapport Vlaanderen: Thema's Mira-T 2002, Garant, Antwerpen, pp. 289–307.

De Flora, S., C. Bennicelli, & M. Bagnasco, 1994. Genotoxicity of mercury compounds. A review. Mutation Research, 317: 57-79.

De Wit, C.A., 2000. Brominated Flame Retardants Swedish Environmental Protection Agency, Report 5065, Elanders Gotab, Stockholm, Sweden, 95p.

Degani, G., H. Hahamu & D. Levanin, 1986. The relationship of eel *Anguilla anguilla* (L.) body size, lipid, protein, glucose, ash, moisture composition and enzyme activity (aldolase). Comparative Biochemistry and Physiology 86(A4): 739-745.

Derbel, M., M. Hosokawah & T. Satoh, 1996. Differences in the induction of carboxylesterase RL4 in rat liver microsomes by various perfluorinated fatty acids, metabolically inert derivatives of fatty acids. Biological and Pharmaceutical Bulletin 19: 765-767.

de Voogt, P., P. Slot, *et al*. 2003. Report to Dutch Ministry of Transport and Water Works, University ofAmsterdam,Amsterdam, The Netherlands (in Dutch).

DeWitt, J.B., C. M. Menzie, V.A. Adomaitis & W.L. Reichel, 1960. Pesticidal residues in animal tissues. Transactions of the North American Wildlife Conference, 25: 277-285.

deWit, C.A., A.T. Fisk, K.E. Hobbs, D.C.G. Muir & AMAP Assessment, 2002. Persistent Organic Pollutants in the Artic, Oslo, Norway: Artic Monitoring and Assessment Program (AMAP). Xvi + 310p.

Dewulf, J. P., H. R. Van Langenhove & L. F. Van Der Auwera, 1998. Air/water exchange dynamics of 13 volatile chlorinated C1- and C2-hydrocarbons and monocyclic aromatic hydrocarbons in the southern North Sea and the Scheldt estuary, Environmental Science and Technology, 32: 903–911.

Di Guilio, R.T., P.C. Washburn, R.J. Wenning, G.W. Winston & C.S. Jewell, 1989. Biochemical responses in aquatic animals: a review of determinants of oxidative stress. Environmental Toxicology and Chemistry 8: 1103-1123.

Dickhoff, W.W., L. Yan, E.M. Plisetskaya, C.V. Sullivan, P. Swanson, A. Hara & M.G; Bernard, 1989. Relationship between metabolic and reproductive hormones in salmonid fish. Fish Physiology and Biochemistry 7: 147.

Dörner, H., C. Skov, S. Berg, T. Schulze, D.J. Beare & G. Van der Velde, 2006. The diet of large eels (*Anguilla anguilla*) in relation to food availability. ICES Annual Science Conference, Maastricht, CM 2006/J:28.

Dumortier, M., L. De Bruyn, M. Hens, J. Peymen, A. Schneiders, T. Van Daele W. Van Reeth, G. Weyemberh, E. Kuijken, 2005. Natuurrapport 2005. Toestand van de natuur in Vlaanderen: cijfers voor het beleid. Deel IV Milieuthema's, verontreiniging door bestrijdingsmiddelen. Mededelingen van het Instituut voor Natuurbehoud nr. 24, Brussel, p. 225-231.

Durif, C., S. Dufour & P. Elie, 2006. Impact of silvering stage, body size and condition on the maturation potential of European eel. Marine Ecology-Progress Series: In press.

Dutta, H.M. & H.J.M. Meijer, 2003. Sublethal effects of diawinon on the structure of the testis of bluegill. *Lepomis macrochirus*: a microscopic analyses. Environmental Pollution 125: 355–360.

Eales, J.G.& D.L. Maclatchy, 1989. The relationship between T_3-production and energy balance in salmonids and other teleosts. Fish Physiology and Biochemistry7 (1-4): 289-293.

EFSA, 2005. Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the Commission related to the presence of non dioxin-like polychlorinated biphenyls (PCB) in feed and food. The EFSA Journal 284, 1-137.

EC, 2003. Directive 2003/11/EC of the European Parliament and of the Council of 6 February 2003 amending for 52 the 24th time Council Directive 76/769/EEC relating to restrictions on the marketing and use of certain 53 dangerous substances and preparations (pentabromodiphenyl ether, octabromodiphenyl ether) Official 54 Journal L042, 15/02/2003.

EC, 2006. COMMISSION REGULATION (EC) No 199/2006 of 3 February 2006 amending Regulation (EC) No 466/2001 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs as regards dioxins and dioxin-like PCBs. Official Journal of the European Union, L32/34-38.

EG, 2000. Richtlijn 2000/60/EG van het Europees Parlement en de Raad van 23 oktober 2000 tot vaststelling van een kader voor communautaire maatregelen betreffende het waterbeleid. Publicatieblad van de Europese Gemeenschap 22 december 2000, L327: 1-72.

EG, 2001. Richtlijn 2001/466/EG van de Commissie van 8 maart 2001 tot vaststelling van maximumgehalten aan bepaalde verontreinigingen in levensmiddelen. Publicatieblad van de Europese Gemeenschappen, 16 maart 2001, L 77: 1-13.

Elcombe, C.R. & J.J. Lech, 1979. Induction and charactarisation of hemoproteins P-450 and monooxygenation in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Toxicology and Applied Pharmacology 49: 437-450.

Elliot, J.E., R.J. Norstrom, A. Lorenzen, L.E. Hart, H. Philbert & S.W. Kennedy, 1996. Biological effects of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxines, dibenzofurans, and biphenyls in bald eagle (*Haliaeetus leucocephalus*) chicks. Environmental Toxicology and Chemistry 15: 782-793.

EPA, Environmental Protection Agency, 2000. Guidance for Assessing Chemical Contaminant Data for Use. In: Fish Advisories, Risk Assessment and Fish Consumption Limits, Third Edition. United States Environmental Protection Agency, Office of Water, November 2000: 232 p.

Eriksson, P., H. Viberg, E. Jakobsson, U. Örn & A. Fredriksson, 1999. PBDE, 2,2',4,4',5-pentabromodiphenyl ether, causes permanent neurotoxic effects during a defined period of neonatal brain development. Organohalogen Compounds 40: 333–336.

Erlinge, S., 1980. The situation of the fish otter in Sweden. In: The Fish Otter in Europe: Its Distribution, Endangerment and Preservation, *eds*. C. Reuther & A. Festetics, pp. 103-106. Oderhaus and Gottingen.

Esty, D.C., M.A. Levy, T. Srebotnjak, A. de Sherbinin, C.H. Kim, B Anderson, 2006. Pilot 2006 Environmental Performance Index. New Haven: Yale Center for Environmental Law & Policy.

European Commission, 2003. Proposal for a regulation of the European Parliament and the Council concerning the registration, evaluation, authorization and restriction of chemicals (REACH), establishing a European Chemicals Agency and amending Directive 1999/45/EC and Regulation (EC) on Persistent Organic Pollutants.

European Environmental Agency, 2005. Environment and Health. EEA-report 2005/10. Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg.

Evans, D.H., 1987. The fish gill: Site of action and model for toxic effects of environmental pollutants. Environmental Health Perspectives 71: 47-58.

Everaarts, J.M., 1995. DNA integrity as a biomarker of marine pollution: strand breaks in seastar (*Asterias rubens*) and dab (*Limanda limanda*). Marine Pollution Bulletin 31: 431-438.

Exley, C., J.K. Pinnegar & H. Taylor, 1997. Hydroxyaluminosilicates and Acute Aluminium Toxicity in Fish. Journal od Theoretical Biology 183: 1333-139.

Federatie van de Ondernemingen van non-ferro Metalen, 1994. Belgische Nijverheid van nonferrometalen.

Fernandez-Vega, C., E. Sancho, M.D. Ferrando & E. Andreu-Moliner, 1999. Thiobencarb toxicity and plasma AchE inhibition in the European eel. Journal of Environmental Science and Health Part B 34(1): 61-73.

Ferrando, M.D. & Andreu, E., 1991a. The effect of time on physiological changes in eel *Anguilla anguilla*, induced by lindane. Comparative Biochemistry and Physiology 100C: 95-98.

Ferrando, M.D. & Andreu, E., 1991b. Effects of lindane on fish carbohydrate metabolism. Ecotoxicological and Environmental Safety 22: 17-23.

Feunteun, E., 2002. Management and restoration of European eel population (*Anguilla anguilla*): an impossible bargain. Ecological Entomology 18: 575–591.

Feunteun, E., P. Lafaille, T. Robinet, C. Briand, A. Baisez, J.M. Olivier & A. Acou, 2003. A review of upstream migration and movements in inland waters by anguillid eels: towards a general theory. In: Aida, K., K. Tsukamoto, K. Yamauchi (eds), Eel biology, Springer Verlag, Tokyo: 191-213.

Fevolden, S.E. & S.P. Garner, 1986. Population-genetics of *Mytilus edulis* from Oslofjorden, Norway, in oil-polluted and non oil-polluted water. Sarsia 71: 247–257.

Fisk, A.T., C.A. de Wit, M. Wayland, Z.Z. Kuzyk, N. Burgess, R. Letcher, B. Braune, R. Norstrom, S. P. Blum, C. Sandau, E. Lie, H.J.S. Larsen, J.U. Skaare & D.C.G. Muir, 2005. An assessment of the toxicological significance of anthropogenic contaminants in Canadian arctic wildlife. Science of Total Environmental 351-352: 57-93.

Folmar, L.C., N.D. Denslow, V. Rao, M. Chow, D.A. Crain, J. Enblom, J. Marcino & L.J.Jr. Guilette, 1996. Vitellogenin induction and reduced serum testosterone concentrations in feral male carp (*Cyprinus carpio*) captured near a major metropolitan sewage treatment plant. Environmental Health Perspectives 104: 1096–1101.

Folmar, L.C., N.D. Denslow, K. Kroll, E.F. Orlando, J. Enblom, J. Marcino, C. Metcalfe & L.J.Jr. Guilette, 2001. Altered serum sex steroids and vitellogenin induction in walleye (*Stizostedion vitreum*) collected near a metropolitan sewage treatment plant. Archives of Environmental Contamination and Toxicology 40(3): 392–398.

Fontaine, Y.A., 1994. L’argenture de l’ anguille: métamorphose, anticipation, adaptation. Bulletin Française de la Pêche et de Pisciculture 335: 171-185.

Forster, W., 2004. Foliar uptake and translocation relationships for polar xenobiotics. Proceedings of the 7th International Symposium on adjuvants for agrochemicals, 8-12/11/2004, Cape Town, South Africa, p242-247.

Foulkes, E., 1990. Effects of heavy metals. Vol 1-2, CRC Press, Boca Raton.

Fox, G.A., 1976. Eggshell quality: its ecological and physiological significance in a DDT-contaminated common tern population. The Wilson Bulletin 88: 459-477.

Fox, M.E., J.H. Carey & B.G. Oliver, 1983. Compartmental distribution of organochlorine contaminants in the Niagara River and the Western Basin of Lake Ontario. Journal of Great Lakes Research, 9(2): 287-294.

Freeman, H.C. & D.R. Idler, 1973. Effects of corticosteroids on liver transaminases in two salmonids, the rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and the brook trout (*Salvelinus fontinalis*). General and Comparative Endocrinology 20: 69-76.

Froese, R., 2006. Cube law, condition factor and weight-length relationships: history, meta-analysis and recommendations. Jounral of Applied Ichthyology 22: 241-253.

Fromme, H., T. Otto, K. Pilz & F. Neugebauer, 1999. Levels of synthetic musks: bromocyclene and PCBs in eel (*Anguilla anguilla*) and PCBs in sediment samples from some waters of Berlin/Germany. Chemosphere, 39: 1723–1735.

Garrett, G.P. & C.R. Inman, 1984. 'Selenium-Induced Changes in Fish Populations of a Heated Reservoir', Proceedings of the annual conference of the Southeastern Association of Fish and Wildlife Agencies 38: 291-301.

Gavis, J. & J.F. Ferguson, 1972. The cycling of mercury through the environment. Water Research 6: 989-1008.

Giesy, J.P., J.P. Ludwig & D.E. Tillit, 1994a. Deformities in birds of the Great Lakes Region. Environmental Science and Technology 28: 128A-135A.

Giesy, J.P., J.P. Ludwig & D.E. Tillit, 1994b. Dioxins, dibenzofurans, PCBs and colonial, fish-eating water birds. In: Schecter, A., editor. Dioxins and health. New York, NY, USA: Plenum Publishers; 1994, pp. 249-307.

Giesy, J.P. & K. Kannan, 2001. Global distribution of perfluorooctane sulfonate in wildlife. Environmental Science and Technology 35: 1339-1342.

Gilbertson, M., T. Kubiak, J. Ludwig & G. Fox, 1991. Great Lakes embryo mortality, edema, and deformities syndrome (GLEMEDS) in colonial fish-eating birds: similarity to chick-edema disease. Journal of Toxicology and Environmental Health Part A 33(4): 455–520.

Gill, T.S., G. Leitner, S. Porta & A. Epple, 1993. Response of plasma cortisol to environmental cadmium in the eel, *Anguilla rostrata* LeSueur. Comparative Biochemistry and Physiology C, 104(3): 489-95.

Gillemot, P., 2003. Evaluatie van PFOS vervuiling en xeno-oestrogene effecten in endogene vispopulaties in Vlaanderen. Eindverhandeling UA, Lic. Biomedische Wetenschappen, 44p.

Gillespie, R.B. & P.C. Baumann, 1986. Effects of high tissue concentrations of selenium on reproduction by bluegills. Transactions of the American Institute of Chemical Engineers 115: 208-213.

Gillespie, R.B. & S.I., Guttman, 1989. Effects of contaminants on the frequencies of allozymes in populations of the central stoneroller. Environmental Toxicology and Chemistry 8: 309–317.

Gimeno, L., M.D. Ferrando, S. Sanchez & E. Andreu, 1994. Endosulfan effects on liver and blood of the eel, *Anguilla anguilla*. Comparative Biochemistry and Physiology 108C: 343-348.

Gimeno, L., M.D. Ferrando, S. Sanchez, L.O. Gimeno & E. Andreu, 1995. Pesticide effects on eel metabolism. Ecotoxicology and Environmental Safety 31: 153-157.

Giuney, P.D., M.J. Melancon, J.R. Lech & R.E. Petersen, 1979. Effects of egg and sperm maturation and spawning on the distribution and elimination of polychlorinated biphenyl in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Toxicology and Applied Pharmacology 47: 261-272.

Glova, G.J., 1998. Fish density variations int the braided Ashley River, Canterbury, New Zealand. N.Z. Marine Freshxater Research 22: 9-15.

Gochfeld, M. 1980. Tissue distribution of mercury in normal and abnormal young common terns. Marine Pollution Bulletin 11: 362-377.

Gochfeld, M. & J. Burger, 1988. Effects of lead on growth and feeding behavior of young common terns (*Sterna hirundo).* Archieves of Environmental Contamination and Toxicology 17: 513-517.

Goemans, G., C. Belpaire, M. Raemaekers & M. Guns, 2003. Het Vlaamse palingpolluentenmeetnet, 1994-2001: gehalten aan polychloorbifenylen, organochloorpesticiden en zware metalen in paling. Rapport van het Instituut voor Bosbouw en Wildbeheer, IBW.Wb.V.R.2003.99. 169 p.

Goemans, G. & C. Belpaire, 2004. The eel pollutant monitoring network in Flanders, Belgium. Results of 10 years monitoring. Organohalogen Compounds, 66: 1834-1840.

Goksøyr, A. & L. Frölin, 1992. The cytochrome P450 system in fish, aquatic toxicology and environmental monitoring. Aquatic Toxicology 22: 287-312.

Goldenthal, E.I., D.C. Jessup, R.G. Geil, N.D. Jefferson, R.J. Arceo & F.A. Ruecker, 1978a. Ninety-day subacute rat toxicity study no. 137-085. Technical report. International Research Development, Mattawan, MI, USA.

Goldenthal, E.I., D.C. Jessup, R.G. Geil, N.D. Jefferson, R.J. Arceo & F.A. Ruecker, 1978b. Ninety-day subacute rhesus monkey toxicity study no. 137-085. Technical report. International Research Development, Mattawan, MI, USA.

Gomara B, L.R. Bordajandi, M.A. Fernandez, L. Herrero, E. Abad, M. Abalos, J. Rivera & M.J. Gonzalez, 2005. Levels and trends of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins/furans (PCDD/Fs) and dioxin-like polychlorinated biphenyls (PCBs) in Spanish commercial fish and shellfish products, 1995-2003. Journal of Agricultural and Food Chemistry 53: 8406 – 8413.

Gony, S., 1987. Experimental research on the effects of cadmium on young yellow-eels: a histological and SEM structural approach. Eel Working Group, Bristol, April 1987, p.1-7.

Goodwin, K.R., 1999. American Eel subpopulation characteristics in the Potomac river drainage, Virginia. Thesis Faculty of Virginia Polytechnic Institute and State University. Blacksburg, Virginia. 116 p.

Goursolle, R. 2002. Etude de la contamination en polychlorobiphényles le long des réseaux trophiques estuariens. Application à l'estuaire de la Gironde. Université Bordeaux, Laboratoire de physico-toxicochimie des systèmes naturels, 82 pages + annexes.

Grosell, M., I. Boëtius, J.H.J.M. Hansen & P. Rosenkilde, 1996. Influence of preexposure to sublethal levels of copper on ^{64}Cu uptake and distribution among tissues of the European eel (*Anguilla anguilla*). Comparative Biochemistry and Physiology Vol. 114C, No. 3: 229-235.

Grosell, M., J.H.J.M. Hansen & P. Rosenkilde, 1998. Cu uptake, metabolism and elimination in fed and starved European eels (*Anguilla anguilla*) during adaptation to water-borne Cu exposure. Comparative Biochemistry and Physiology C 120(2): 295-305.

Gruger, E.H. Jr., T. Hruby & N.L. Karrick, 1976. Sublethal effects of structurally related tetrachloro-, pentachloro-, and hexachlorobiphenyl on juvenile coho salmon. Environmental Science & Technology 10: 1033-1037.

Gutleb, A.C., J. Appelman, M.C.Bronkhorst, J.H.J. van den Berg, A. Spenkelink, A. Brouwer & A.J. Murk, 1999. Delayed effects of pre- and early-life time exposure to polychlorinated biphenyls on tadpoles of two amphibian species (*Xenopus laevis* and *Rana temporaria*). Environmental Toxicology and Pharmacology 8: 1–14.

Gutleb, A.C., 2000. The role of pollutants in the decline of the otter. In: Proceedings of the First Otter Toxicology Conference, Isle of Skye, September 2000 (Edited by Conroy, J.W.H., P. Yoxon & A.C. Gutleb). Journal of the International Otter Survival Fund No 1. pp. 29-40.

Gutleb, A.C. & A.J. Murk, 2000. Review of current knowledge of PHAH toxicity and vitamin homeostasis in the Eurasian otter (*Lutra lutra*). In: Proceedings of the First Otter Toxicology Conference, Isle of Skye, September 2000 (Edited by Conroy, J.W.H., P. Yoxon & A.C. Gutleb). Journal of the International Otter Survival Fund No 1. pp. 145-157.

Haas, M. B. & A. S. Cooke, 1983. Pollutants in kingfishers. Annual Report of the Institute of Terrestrial Ecology, 1982: 64-65.

Hahn, M.E. & J.J. Stegemann, 1994. Regulation of cytochrome P4501A1 in teleosts : sustained induction of CYP1A1 mRNA, protein, and catalytic activity by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in the marine fish Stenotomous chrysops. Toxicology and Applied Pharmacology 127: 187–198.

Halbrook, R.S., J.H. Jenkins, P.B. Bush & N.D. Seabolt, 1981. Selected environmental contaminants in river otters (*Lutra Canadensis*) of Georgia and their relationship to the possible decline of otters in North America. In: Worldwide Furbearers Conference Proceedings, *eds*. J.A. Chapman & D. Pursely, Frostburg, Md. Pp. 1752-1762.

Hallgren, S. & P.O. Darnerud, 1998. Effects of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs), polychlorinated biphenyls (PCBs) and chlorinated paraffins (CPs) on thyroid hormone levels and enzyme activities in rats. Organohalogen Compounds 35: 391–394.

Hamilton, R.M., 1985. Discharges of pesticides to the Rivers Mole and Taw, their accumulation in fish flesh and possible effects on fish stocks. Journal of Fiesheries Biology 27(Suppl. A): 139-149.

Hammond, S.D., 2003. Seasonal movements of yellow-phase American eels (*Anguilla rostrata*) in the Shenandoah River, West Virginia. Thesis. Davis College of Agriculture, Forestry, and Consumer Sciences at West Virginia University, Morgantown WV. 32 p.

Handy, R.D., 1992. The assessment of episodic metal pollution. II. The effects of cadmium and copper enriched diets on tissue contamination analysis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Archives of Environmental Contamination and Toxicololgy 22, 82–87.

Harrad S. & D. Smith, 1999. Eel consumption as a pathway of human exposure to PCBs. International Journal of Environmental Health Research 9: 31 – 37.

Harries, J.E., A. Janbakhsh, S. Jobling, P. Matthiessen, J.P. Sumpter & C.R. Tyler, 1999. Estrogenic potency of effluent from sewage treatment works in the United Kingdom. Environmental Toxicology and Chemistry 18(5): 932–937.

Harshbarger, J.C., M.J. Coffey & M.Y. Young, 2000. Intersexes in Mississippi River shovelnose sturgeon sampled below Saint Louis, Missouri, USA. Marine Environmental Research 50(1–5): 247–250.

Harvey, J.S., B.P. Waldock & M. Parry, 1997. The application of the 32P-postlabelling assay to aquatic biomontoring. Mutatation Research 38: 77-88.

Hashimoto, S., H. Bessho, A. Hara, M. Nakamura, T. Iguchi & K. Fujita, 2000. Elevated serum vitellogenin levels and gonadal abnormalities in wild male flounder (*Pleuronectes yokohamae*) from Tokyo Bay, Japan. Marine Environmental Research 49(1): 37–53.

Haughom, B. & Ø. Spydevold, 1992. The mechanism underlying the hypolipemic effect of perfluorooctanoic acid (PFOA), perfluorooctane sulfonic acid (PFOSA) and clofibric acid. Biochimica et Biophysica Acta 1128: 65-72.

Haux, C., M. Sjöbeck & A. Larsson, 1985. Physiological stress responses in a wild fish population of perch (*Perca fluviatilis*) after capture and during subsequent recovery. Marine Environmental Research 15: 77-95.

Heath, R.G., J.W. Spann, E.F. Hill & J.F. Kreitzer, 1972. Comparative dietary toxicities of pesticides to birds. U.S. Fish and Wildlife Servoce Special Science Report Wildlife No. 151.

Hecker M., C.R. Tyler, M. Hoffmann, S. Maddix & L. Karbe, 2002. Plasma biomarkers in fish provide evidence for endocrine modulation in the Elbe River, Germany. Environmental Science and Technology 36(11): 2311–2321.

Heermans, W. & J.A. Willigen, 1981. Onderzoek naar de conditiefactor, geslachtsverhouding, vetgehalte en gewicht van rode aal in enige zoete en zoute Nederlandse wateren. Rijksinstituut voot Visserijonderzoek, IJmuiden, p. 29.

Hekster, F.M., P. de Voogt, A.M.C.M. Pijnenburg & R.W.P.M. Laane, 2002. Perfluoroalkylated substances. Aquatic environmental assessment. Report RIKZ/2002.043.

Hekster F.M., R.W.P.M. Laane & P. de Voogt, 2003. Environmental and toxicity effects of perfluoroalkylated substances. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology 179: 99-121.

Helder, T. 1980. Effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) on early life stages of the pike (*Esox lucius* L.). Science of the Total Environnement 14: 255-264.

Hemming, J.M., W.T. Waller, M.C. Chow, N.D. Denslow & B. Venables, 2001. Assessment of the estrogenicity and toxicity of a domestic wastewater effluent flowing through a constructed wetland system using biomarkers in male fathead minnows (*Pimephales promelas* Rafinesque, 1820). Environmental Toxicology and Chemistry 20(10): 2268–2275.

Hendriks, A.J., & H. Pieters, 1993. Monitoring concentrations of microcontaminants in aquatic organisms in the Rhine delta: a comparison with reference values. Chemosphere 26: 817–836.

Henney, C.J., L.J. Blus, S.V. Gregory & C.J. Stafford, 1981. PCBs and organochlorine pesticides in wild mink and otters from Oregon. In: Worldwide Furbearers Conference Proceedings, *eds*. J.A. Chapman & D. Pursely, Frostburg, Md. Pp. 1763-1780.

Hermanutz, R.O., 1992. Malformations of the fathead minnow (*Pimephales promelas*) in an ecosystem with elevated selenium concentrations. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 49: 290-294.

Hermanutz, R.O., K.N. Allen, T.H. Roush & S.F. Hedtke, 1992. Effects of elevated selenium concentrations on bluegills (*Lepomis macrochirus*) in outdoor experimental streams. Environmental Toxicology and Pharmacology 11: 217-224.

Hernandez, L.M., M.C. Rico, M.J. Gonzales, M.C. Montero & M.A. Fernandez, 1987. Residues of organochlorine chemicals and concentrations of heavy metals in ciconiform eggs in relation to diet and habitat. Journal of Environmental Science and Health B22(2): 245-258.

Hibiya, T., 1982. An Atlas of Fish Histology – Normal and Pathological Features. Kodansha, Tokyo.

Hill, D.W., E. Hejtmancik & B.J. Camp, 1976. Induction of hepatic microsomal enzymes by Aroclor 1254 in *Ictalurus punctatus* (channel catfish). Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 16: 495-502.

Hodson, P.V., Blunt, B.R., D.J. Spry & K. Austen, 1977. Evaluation of erythrocyte δ-aminoevulinic acid dehydratase activity as a short-term indicator in fish of a harmful exposure to lead. Journal of Fisheries Research Board Canada 34: 501-508.

Hodson, P.V., Blunt, B.R. & D.M. Whittle, 1984. Monitoring lead in exposure of fish. In: Cairns, V.W., P.V. Hodson & J.O. Nriagu (eds.), 1984. Contaminant effects on fisheries. John Willey and sons, USA, pp. 87-99.

Hodson, P.V., M. Castonguay, C.M. Couillard, C. Desjardins, E. Pelletier & R. McLeod, 1994. Spatial and temporal variations in chemical contamination of American eels, *Anguilla rostrata*, captured in the estuary of the St Lawrence River. Canadian Journal of Fish and Aquatic Science 51: 464-478.

Hoff, P.T., W. Van Dongen, E.L. Esmans, R. Blust & W.M. De Coen, 2003. Evaluation of the toxicological effects of perfluorooctane sulfonic acid in the common carp (*Cyprinus carpio*). Aquatic Toxicology 62: 349-359.

Hoff, P.T., K. Van Campenhout, K. Van de Vijver, A. Covaci, L. Bervoets, L. Moens, G. Huyskens, G. Goemans, C. Belpaire, R. Blust & W. De Coen, 2005. Perfluorooctane sulfonic acid and organohalogen pollutants in liver of three freshwater fish species in Flanders (Belgium): relationships with biochemical and organismal effects. Environmental Pollution 137: 324-333.

Hogstrand, C., S.D. Reis & C.M. Wood, 1995. Ca^{2+} versus Zn^{2+} transport in the gills of freshwater rainbow trout and the cost of adaptation to waterborne Zn^{2+}. Journal of Experimental Biology 198: 337-348.

Hogstrand, C. & C.M. Wood, 1996. The physiology and toxicology of zinc in fish. In: Taylor, E.W. (Ed.), Toxicology of Aquatic Pollution: Physiological, Cellular and Molecular Approaches. Cambridge university Press. Cambridge, pp. 61-84.

Holmberg, B., S. Jensen, A. Larsson, R. Lewander & M. Olsson, 1972. Metabolic effects of technical pentachlorophenol (PCP) on the eel *Anguilla anguilla*. Comparative Biochemistry and Physiology 43B: 171-183.

Holmes, D.C., J.H. Simmons & J.O.G. Tatton, 1967. Chlorinated hydrocarbons in British Wildlife, Nature London 216: 227-229.

Hontela, A., J.B. Rasmussen, C. Audet & G. Chevalier, 1992. Impaired cortisol stress response in fish from environments polluted by PAHs, PCBs, and mercury. Archives of Environmental Contamination and Toxicology 22: 278-283.

Hontela, A., P. Dumont, D. Duclos & R. Fortin, 1995. Endocrine and metabolic dysfunction in yellow perch (*Perca flavescens*) exposed to organic contaminants and heavy metals in the St Lawrence river. Environmental Toxicology and Chemistry 14: 725-731.

Hontela, A., 1997. Endocrine and physiological responses of fish to xenobiotics: role of glucocorticoid hormones. Rev. Toxicol. 1: 1-46.

Hontela, A., 1998. Biomarqueurs endocrines: indicatuers hormonaux de toxicité subléthale chez les poisons. In : Lagadic, *et al.* (ed.) Utilisation de biomarqueurs pour la surveillance de la qualité de l' environnement. Technique & documentation, p. 183-200.

Hose, J.E., J.B. Hannah, M.L. Landolt, B.S. Miller, S.P. Felton & W.T. Iwaoka, 1981. Uptake of benzo[α]pyrene by gonadal tissue of flatfish (family Pleuronectidae) and its effects on subsequent egg development. Journal of Toxicology and Environmental Health 7: 991-1000.

Howard, T.E., McLeay & C.C. Walden, 1971. Sublethal effects of bleached kraft mill effluents to fish. CPAR Project Report 9-2, Pulp and Paper Pollution Abatement, Ottawa, Canada, 63 pp.

Howard, P. H., 1989. Handbook of Environmental Fate and Exposure data for Organic Chemicals: Volume I Large production and priority pollutants, Lewis Publishers, Chelsea, USA, p. 574.

Howard, P. H., 1990. Handbook of Environmental Fate and Exposure data for Organic Chemicals: Volume II Solvents, Lewis Publishers, Chelsea, USA, p. 546.

Hu, W., L.E. King, P.D. Jones & J.P. Giesy, 2000. Measurement of effects of perfluorinated compounds on cell membrane fluidity by flow cytometry. Proceedings, SETAC Annual Meeting. Nashville, TN, USA, November 12-16, 2000, p 291.

Hu, W., P.D. Jones, B.L. Upham, J.E. Trosko, C. Lau & J.P. Giesy, 2002. Inhibition of gap-junction intercellular communication by perfluorinated compounds in rat liver and dolphin kidney epithelial cell lines in vitro and Sprague-Dawley rats *in vivo*. Toxicological Sciences 68: 429-436.

Hughes, G.M., T. Szegletes & J. Nemcsok, 1997. Study of the effects of brief exposure to an organophosphorus insecticide (methidathion) on blood characteristics of carp (*Cyprinius carpio*). Acta Biologica Hungarica 48(2): 157-166.

Hutzinger, O., G. Sundstrom & S. Safe, 1976. Environmental chemistry of flame retardants. Part I. Introduction and principles. Chemosphere, 1, 3-10.

Hutzinger, O., H. Thoma, 1987. Polybrominated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans: the flame retardant issue. Chemosphere, 16, 1877-80.

Hvilsom, M.M., 1983. Copper-induced differential mortality in the mussel *Mytilus edulis*. Marine Biology 76: 291–295.

Ibuki, Y. & R., Goto, 2002. Photo toxicity of benzo[a]pyrene by ultraviolet A irradiation: induction of apoptosis in Jurkat cells. Environmental Toxicology & Pharmacology 11: 101–109.

ICES 2002 International Council for the Exploration of the Sea. Report of the ICES/EIFAC Working Group on Eels. ICES C.M. 2002/ACFM:03.

ICES, International Council for the Exploration of the Sea, 2003. Report of the ICES/EIFAC Working Group on Eels. ICES C.M. 2003/ACFM:06.

Ignatow, A., W. McCutcheon, W. Hoskin, D. Fong & E. Koren, 1991. Specialty Metals: Arsenic. In: Candian Minerals Yearbook, 1990, Review and Outlook, Mineral Report 39. Energy, Mines and Resources Canada, Ottawa, 58.1-59.3. In: Canadian Council of Ministers of the Environment. The National Contaminated Sites Remediation Program. Canadian soil quality guidelines for contaminated sites. Human health effects: Inorganic arsenic, Final report.

Ikeda, T., K. Fukuda, I. Mori, M. Enomoto, T. Komai, & T. Suga, 1987. Induction of cytochrome P450 and peroxisome proliferation in rat liver by perfluorinated octane sulphonic acid (PFOS). In: Fahimi,

H.D. & H. Sies, (Eds.), Peroxisomes in Biology and Medicine. Springer-Verlag, Heidelberg, Germany, p.. 304-308.

James, M.O. & P.J. Little, 1981. Polyhalogenated biphenyls and Phenobarbital evaluation as inducers of drug metabolising enzymes in the sheepshead, *Archosargus probatochephalus*. Chemico-Biological Interactions 36: 229-248.

Jarvenpaa, T., M. Tillander & J.K. Miettinen, 1970. Methylmercury: half-time of eliminiation in flounder, pike and eels. Suomen Kemistilehti B43: 439-442.

Jaylet, A., P. Deparis, V. Ferrier, S. Grinfeld & R. Siboulet, 1986. A new micronucleus test using peripheral blood erythrocytes of the new *Pleurodeles walt* to detect mutagens in freshwater pollution. Mutation Research 164: 245-257.

Jefferies, D.J., 1975. The role of the thyroid in the production of sublethal effects by organochlorine insecticides and polychlorinated biphenyls. In: Organochlorine Insecticides: Persistent Organic Pollutants. (Edited by Moriarty, F.), Pp. 131-230. Academic Press, London.

Jefferies, D.J. & H.M. Hanson, 2000. The role of dieldrin in the decline of the otter (*Lutra lutra*) in Britain: the analytical data. In: Proceedings of the First Otter Toxicology Conference (Edited by J.W.H. Conroy, P. Yoxon & A.C. Gutleb), Journal of the International Otter Survival Fund No 1, pp. 95-143.

Jellyman, D.J., G.J. Glova & P.R. Todd, 1996. Movements of shortfinned eels, *Anguilla australis,* in Lake Ellesmere, New Zealand: results from mark-recapture studies and sonic tracking. New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research 30: 371—381.

Jensen, S., J.E. Kihlström, M. Olsson, C. Lundberg & J. Orberg, 1977. Effects of PCB and DDT on mink (*Mustela vison*) during the reproductive season. Ambio 6: 239.

Jimenez, B.D. & siw coauthors, 1988. The mixed-function oxidase system of bluegill sunfish *Lepomis macrochirus*: correlation of activities in experimental and wild fish. Environmental Toxicology and Chemistry 7: 623-634.

Jimenez, B.D. & L.S. Burtis, 1989. Influence of environmental variables on the hepatic mixed) function oxidase system in the bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*). Comparative Biochemistry and Physiology 93: 11-21.

Jobling, S., M. Nolan, C.R. Tyler, G. Brighty & J.P.Sumpter, 1998. Widespread sexual disruption in wild fish. Environmental Science and Technology 32(17): 2498–2506.

Jobling, S., N. Beresford, M. Nolan, T. Rodgers-Gray, G.C. Brighty, J.P. Sumpter, C.R. Tyler 2002. Altered sexual maturation and gamete production in wild roach (*Rutilus rutilus*) living in rivers that receive treated sewage effluents. Biology of Reproduction 66(2): 272–281.

Johansson, N., 1970. PCB-indications of effects on fish. Proceedings of the PCB-conference, Stockholm, Sweden, September 29 1970: p. 56-58.

Johnson, L.L., D. Misitano, S.Y. Sol, G.M. Nelson, B. French, G.M. Ylitalo & T. Hom, 1998. Contaminants effects on ovarian development and spawning success in rock sole from Puget Sound, Washington. Transactions of the American Fisheries Society 127(3): 375-392.

Jørgensen, E.H., B. Bye & M. Jobling, 1999. Influence of nutritional status on biomarker responses to PCB in the Arctic char (*Salvelinus alpinus*). Aquatic Toxicology 44: 233-244.

Kafafi, S.A., H.Y. Afeefy, A.H. Ali, H.K. Said & G. Kafafi, 1993. Binding of polychlorinated biphenyls to the aryl hydrocarbon receptor. Environmental Health Perspectives 101: 422–428.

Kaiser, G. & G. Tödl, 1980. Mercury. In: The Handbook of Environmental Compounds. Vol. 3, Part A: Anthropogenic Compounds. Edited by Hutzinger, O. Springer, Berlin: pp. 1-58.

Kajiwara, Y., A. Yasutake, T. Adachi & K. Hirayama, 1996. Methylmercury transport across the placenta via neutral amino acid carrier. Archives of Toxicology 7: 310-314.

Kallenborn, R., U. Berger & U. Järnberg, 2004. Perfluorinated alkylated substances (PFAS) in the Nordic environment, NILU and ITM, available through http://www.sft.no/nyheter/dokumenter/pfas_nmr2004.pdf.

Kannan, K., S. Corsolini, *et al.* 2002. "Perfluorooctanesulfonate and related fluorinated hydrocarbons in marine mammals, fishes, and birds from coasts of the Baltic and the Mediterranean Seas. Environ. Sci. Technol. 36(15): 3210-3216.

Kannan, K., S.H. Yun & T.J. Evans, 2005. Chlorinated, brominated and perfluorinated contaminants in livers of polar bears from Alaska. Environmental Science & Technology 39(23): 9057-9063.

Kavanagh, R.J., G.C. Balch, Y. Kiparissis, A.J. Niimi, J. Sherry, C. Tinson & C.D. Metcalfe, 2004. Endocrine disruption and altered gonadal development in white perch (*Morone americana*) from the lower Great Lakes region. Environmental Health Perspectives 112: 898–902.

Key B.D., R.D. Howell & C.S. Criddle, 1997. Fluorinated organics in the biosphere. Environmental Science and Technology 31(9): 2445-2454.

Kihlström, J.E., M. Olsson, S. Jenssen, Å. Johansson, J. Ahlbom & Å. Bergman, 1992. Effects of PCB and different fractions of PCB on the reproduction of the mink (*Mustela vison*). Ambio 21: 563-569.

Kime, D.E., 1995. The effects of pollution on reproduction in fish. Reviews in Fish Biology and Fisheries 5: 52-96.

Kleinow, K.M., M.J. Melancon & J.J. Lech, 1987. Biotransformation and induction: implications for toxicity, bioaccumulation and monitoring of environmental xenobiotics in fish. Environmental Health Perspectives 71: 105-119.

Klerks, P.L. & J.S. Weiss, 1987. Genetic adaptation to heavy metals in aquatic organisms — a review. Environmental Pollution 45: 173–205.

Koeman, J.H., W.H. M. Peeters, C.H.M. Koudstaal-Hol, P.S. Tjioe, & J.J.M. de Goeij, 1973. Mercury - selenium correlations in marine mammals. Nature, 245: 385-386.

Krautter, M. & E. Seidl, 2002. Dauergifte - Bedrohung für das Leben in den Alpen Greenpeace, 9 Oktober 2002, 32p.

Krom, M.D., 1986. An evaluation of the concept of assimilative capacity as applied to marine waters. Ambio 15: 208-214.

Kruuk, H. & J.W.H. Conroy, 1991. Mortality of otters (*Lutra lutra*) in Shetland. Journal of Applied Ecology, 28: 83-94.

Kruuk, H., J.W.H. Conroy & D.N. Carss, 1993. Otters, eels and contaminants. ITE Report to Scottish Natural Heritage, Scotland, pp. 1-21.

Kumaragura, A.K., F.W.H. Beamish & H.W. Fergusson, 1982. Direct and circulatory paths of permethrin causing histopathological changes in the gills of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. Journal of Fish Biology 20: 87-91.

Laffaille P., A. Acou & J. Guillouët, 2005. The yellow European eel (*Anguilla anguilla* L.) may adopt a sedentary lifestyle in inland freshwaters. Ecology of Freshwater Fish 14: 191–196.

Lager, K.F., 1956. Freshwater fish biology. Second edition. W.C. Brown Publishers, Dubuque, Iowa.

Lal, B. & T.P. Singh, 1987. The effect of malathion and γ-BHC on the lipid metabolism in relation to the reproduction in the tropical teleost, *Clarias batrachus*. Environmental Pollution 48: 37-47.

Lamon E.C., S.R. Carpenter & C.A. Stow, 1998. Forecasting PCB concentrations in Lake Michigan salmonids: A dynamic linear model approach. Ecological Applications 8: 659-668.

Lamothe, P.J., M. Gallagher, D.P. Chiver & J.R. Moring, 2000. Homing and movement of yellowphase American eels in freshwater ponds. Environmental Biology of Fishes 58: 393-399.

Langston, W.J., B.S. Chesman, G.R. Burt, N.D. Pope & J. McEvoy, 2002. Metallothionein in liver of eels *Anguilla anguilla* from the Thames Estuary: an indicator of environmental quality? Marine Environmental Research, 53, 263-293.

Larsson, P., S. Hamrin & L. Okla, 1991. Factors determining the uptake of persistent pollutants in an eel population (*Anguilla anguilla* L.). Environmental Pollution 69: 39-50.

Lau, C., J.M. Rogers, R.G. Hanson, B.D. Barbee, M.G. Narotsky, J.E. Schmid & Richards, J.H., 2001. Developmental toxicity of perfluorooctane sulfonate (PFOS) in the rat and the mouse. Teratology 63: 290.

Lauren, D.J. & D.G. McDonald, 1987a. Acclimation to copper by rainbow trout, *Salmo gairdneri*: Physiology. Canadian journal of Fisheries and Aquatic Sciences 44: 99-104.

Lauren, D.J. & D.G. McDonald, 1987b. Acclimation to copper by rainbow trout, *Salmo gairdneri*: Biochemistry. Canadian journal of Fisheries and Aquatic Sciences 44: 105-111.

Lazorchak, J.M., F.H. McCormick, T.R. Henry & A.T. Herlihy, 2003. Contamination of fish in streams of the mid-Atlantic region: An approach to regional indicator selection and wildlife assessment. Environmental Toxicology and Chemistry 22(3): 545–553.

Leary, R.F., F.W. Allendorf & K.L. Knudsen, 1987. Differences in inbreeding coefficients do not explain the association between heterozygosity at allozyme loci and developmental stability in rainbow-trout. Evolution 41: 1413–1415.

Leatherhand, J.F., & R.A. Sonstegard, 1977. On the effect of dietary mirex or PCB (Aroclor 1254) on serum thyroxine (T_4) and triiodothyronine (T_3) levels in rainbow trout. Acta Endocrinologica (Suppl.) 212-234.

Leatherhand, J.F., & R.A. Sonstegard, 1978. Lowering of serum thyroxine and triiodothyronine levels in yearling coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, by dietary mires and PCBs. Journal of the Fisheries Research Board of Canada 35: 1285-1290.

Leatherhand, J.F., & R.A. Sonstegard, 1980. Effect of dietary Mirex and PCBs in combination with food deprivation and testosterone administration on thyroid activity and bioaccumulation of organochlorines in rainbow trout, *Salmo garidneri* Richardson. Journal of Fish Diseases 3(2): 115-124.

Leatherhand, J.F., 1985. Studies on the correlation between stress-response, osmoregulation and thyroid physiology in rainbow trout, *Salmo gairdnerii* (Richardson). Comparative Bio-Chemistry and Physiology 80A(4): 523-531.

Leatherhand, J.F., 1987. Lowering of serum thyroxine and triiodothyronine levels in yearling coho salmon, *Oncorynchus kisutch*, by dietary mirex and PCBs. Journal of Fisheries Research in Canada 35(10): 1285-1289.

Le Cren, E.D. 1951. The length-weight relationship and seasonal cycle in gonad weight and condition in the perch (*Perca fluviatilis*). Journal of Animal Ecolology 20: 201–219.

Lehmann, J., F.-J. Stürenberg, Y. Kullmann & J. Kilwinski, 2005. Umwelt- und Krankheitsbelastungen der Aale in Nordrhein-Westfalen. LÖBF-Mitteilungen Nr. 2/2005: 35–40.

Lemly, A.D., 1985a. Ecological basis for regulating aquatic emissions from the power industry: The case with selenium. Regulatory Toxicology and Pharmacology 5: 465-486.

Lemly, A.D., 1985b. Toxicology of selenium in a freshwater reservoir: Implications for environmental hazard evaluation and safety. Ecotoxicology and Environmental Safety 10: 314-338.

Lemly, A.D., 1993, Teratogenic Effects of Selenium in Natural Populations of Freshwater Fish. Ecotoxicology and Environmental Safety 26: 181-204.

Lemly, A.D., 1996. Assessing the toxic threat of selenium to fish and aquatic birds. Environmental Monitoring and Assessment 43: 19-35.

Leonards, P.E.G., M.D. Smit, A.W.J.J. de Jongh & B. van Hattum, 1994. Evaluation of dose-response relationships for the effects of PCBs on the reproduction of mink (*Mustela vison*). Institute for Environmental Studies, Vrije Universiteit, Amsterdam, p. 47.

Leonards, P.E.G., Th.H. de Vries, W. Minnaard, S. Stuijfzand, P. de Voogt, W.P. Cofino, N.M. van Straalen & B. van Hattum, 1995. Assessment of experimental data on PCB-induced reproduction inhibition in Mink, based on an isomer- and congener-specific approach using 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin toxic equivalency. Environmental Toxicology and Chemistry 14: 639-652.

Leonards, P.E.G., Y. Zierikzee, U.A.Th. Brinkman, W.P. Cofino, N.M. van Straalen & B. van Hattum, 1997. The selective dietary accumulation of planar polychlorinated biphenyls in the otter (*Lutra lutra*). Environmental Toxicology and Chemistry, 16: 1807-1815.

Leonards, P.E.G., I. van der Veen & J. van Hesselingen, 2002. Persistent organic pollutants in Arctic char from a high mountain lake in the Alps. RIVO Netherlands Institute for Fisheries Research, report nr. C044/02.

Leonards, P.E.G., W.J. Dulfer, E.H.G. Evers & K. van de Guchte, 2005. Inventarisatie en evaluatie dioxinen in het Nederlandse aquatische milieu: status 2005. RIVO-rapport C061/05, IJmuiden (Nederland), p. 43.

Lidman, U., L. Forlin, O. Molander & G. Axelson, 1976. Induction of the drug metabolising system in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) liver by polychlorinated biphenyls (PCBs). Acta Pharmacologica et Toxicologica 9: 262-272.

Lidman, U., G. Dave, M-L. Johannsson-Sjöbeck, Å. Larsson & K. Lewander, 1979. Metabolic effects of cortisol on the European eel, *Anguilla anguilla* (LeSueur). Comparative Biochemistry and Physiology 63B: 339-344.

Lindell, M.J., G. Bremle, O. Broberg & P. Larsson, 2001. Monitoring of persistent organic pollutants (POPs): Examples from Lake Vattern, Sweden. Ambio 30: 545 – 551.

Lindström, G., H. Wingfors, M. Dam & B. van Bavel, 1999. Identification of 19 polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in long-finned pilot whale (*Globicephala melas*) from the Atlantic. Archieves of Environmental Contamination and Toxicology 36: 355–363.

Lionetto, M.G., M. Maffia, M.S. Cappello, M.E. Giordano, C. Storelli & T. Schettino, 1998. Effect of cadmium on carbonic anhydrase and Na^+-K^+-ATPase in eel, *Anguilla anguilla*, intestine and gills. Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology, Volume 120, Number 1: 89-91(3).

Livingstone, D.R., C.L. Mitchelmore, L.D. Peters, S.C.M. O'Hara, J.P. Shaw, B.S. Chesman, A. Doyotte, J. McEvoy, D. Ronisz, D.G.J. Larsson & L. Förlin, 2000. Development of hepatic CYP1A and blood vitellogenin in eel (*Anguilla anguilla*) for use as biomarkers in the Thames Estuary, UK. Marine Environmental Research 50(1–5): 367–371.

Lopez, E., & Y.A. Fontaine, 1990. Stimulation hormonale, in vivo, de l' ovaire d' anguille européenne au stade jaune. Reproduction Nutrition Development 30: 577-582.

Luizi, F., B. Korsgaard & I.M. Petersen, 1997. Plasma lipoproteins in European eels (*Anguilla anguilla*): effects of estradiol. Fish Physiology and Biochemistry 16(4): 273–280.

Lye, C.M., C.L.J. Frid, M.E. Gill & D. McCormick, 1997. Abnormalities in the reproductive health of flounder *Platichthys flesus* exposed to effluent from a sewage treatment works. Marine Pollutution Bulletin 34(1): 34–41.

Maas, J.L., 2003a. Biologische monitoring zoete rijkswateren: bioaccumulatie in aal en driehoeksmosselen**.** Een evaluatie van 10 jaar monitoren (1992 – 2002). RIZA-rapport 2003.013.: p. 83.

Maas, J.L., E.J. van der Plassche, A. Straetmans, A.D. Vethaak & A.C. Belfroid, 2003b. Normstelling voor bioassays; Uitwerking voor oppervlaktewater en waterbodem. RIZA-rapport 2003.005, Lelystad.

Maes, G.E., J.A.M. Raymaekers, C. Pampoulie, A. Seynaeve, G. Goemans, C. Belpaire & F.A.M. Volckaert, 2005. The catadromous European eel *Anguilla anguilla* (L.) as a model for freshwater evolutionary ecotoxicology: Relationship between heavy metal bioaccumulation, condition and genetic variability. Aquatic Toxicology, 73: 99-114.

Maes, J., G. Goemans & C. Belpaire, in press. Spatial variation and temporal pollution profiles of polychlorinated biphenyles, organochlorine pesticides and heavy metals in European yellow eel (*Anguilla anguilla* L.), Flanders, Belgium.

Martel, P.H., Kovacs, T.G., B.I. O'Connor & R.H. Voss, 1994. A survey of pulp and paper mill effluents for their potential to induce mixed function oxidase enzyme activity in fish. Water Research 28: 1835-1844.

Martijn, A., H. Bakker & R.H. Schreuder, 1993. Soil persistence of DDT, dieldrin, and lindane over a long period. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 51: 178–184.

Martin J.W., S.A. Mabury, K.R. Solomon & D.C.G. Muir, 2003a. Bioconcentration and tissue distribution of perfluorinated acids in rainbow trout. Environmental Toxicology and Chemistry 22 (1): 196-204.

Martin J.W., S.A. Mabury, K.R. Solomon & D.C.G. Muir, 2003b. Dietary accumulation of perfluorinated acids in juvenile rainbow trout *(Oncorhynchus mykiss)*. Environmental Toxicology and Chemistry 22 (1): 189-195.

Martin J.W., D.M. Whittle, D.C.G. Muir & S.A. Mabury , 2004a. Perfluoroalkyl contaminants in a food web from Lake Ontario. Environmental Science and Technology 38 (20): 5379-5385.

Martin J.W., M.M. Smithwick, B.M. Braune, P.F. Hoekstra, D.C.G. Muir & S.A. Mabury, 2004b. Identification of longchain perfluorinated acids in biota from the Canadian Arctic. Environmental Science and Technology 38 (2): 373-380.

Marty, G.D., A. Hoffmann, M.S. Okihiro, K. Hepler & Hanes, D., 2003. Retrospective analyses: bile hydrocarbons and histopathology of demersal rockfish in Prince William sound, Alaska, after the Exxon Valdez oil spill. Marine Environmental Research. 56: 569–584.

Mason, C.F., 1989. Water pollution and otter distribution: A review. Lutra 32: 97-131.

Mason, C.F. & N.A.E. Barak, 1990. A catchment survey for heavy metals using the eel (*Anguilla anguilla*). Chemosphere 21l: 695 – 699.

Mason, C.F. 1993. Organochlorine pesiticide residues and PCBs in eels *Anguilla anguilla* from some Britsih reedbeds. Chemosphere 26: 2289-92.

Mason, C.F. & S.M. Macdonald, 1993. Pollution and otter conservation in a European context. In: Proceedings of the National Otter Conference, Cambridge, September 1992. Edited by Morris, P.A. The Mammal Society, Bristol. pp. 17-20.

McArdle, M., A. Elskus, A. McElroy, B. Larsen, W. Benson & D. Schlenk, 2000. Estrogenic and CYP1A response of mummichogs and sunshine bass to sewage effluent. Marine Environmental Research 50 (1–5): 175–179.

McConnell, E.E., 1985. Comparative toxicity of PCBs and related compounds in various species of animals. Environmental Health Perspectives 60: 29-33.

McGeer, J.C., C. Szebedinszky, D.G; McDonald & C.M. Wood, 2000. Effects of chronic sublethal exposure to waterborne Cu, Cd or Zn in rainbow trout. 1: Iono-regulatory disturbance and metabolic costs. Aquatic Toxicology 50: 231-243.

McKinney, J.D. & C.L. Waller, 1994. Polychlorinated biphenyls as hormonally active structural analogues. Environmental Health Perspectives 102: 290-297.

McLeay, D.J., 1973. Effects of a 12-hr and 25-day exposure to kraft pulp mill effluent on the blood and tissues of juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). Journal of the Fisheries Research board of Canada 30: 395-400.

Melancon, M.J., C.R. Elcombe, M.J. Vodicnik & J.J. Lech, 1981. Induction of cytochromes P-450 and mixed-function oxidase activity by polychlorinated biphenyls and β-naphthoflavone in carp (*Cyprinius carpio*). Comparative Biochemistry and Physiology 69C: 219-226.

Miller, M.A., 1993. Maternal transfert of organochlorine compounds in salmonines to their eggs. Canadian Journal of Fish and Aquatic Science 50: 1405-1413.

MiNa Raad, 2003. Briefadvies van 11 september 2003 over het voorontwerp van decreet houdende instemming met het protocol bij het verdrag van 1979 betreffende grensoverschrijdende luchtverontreiniging over lange afstand, inzake persistente organische stoffen, met bijlagen, ondertekend in Aarhus op 24 juni 1998.

Minier, C., G. Caltot, F. Leboulanger & E.M. Hill, 2000. An investigation of the incidence of intersex fish in Seine-Maritime and Sussex regions. Analusis 28(9): 801–806.

Ministerie van Landbouw en Visserij, 1989. De otter in perspectief: Een perspectief voor de otter. Herstelplan Leefgebieden Otter. Directie natuur, Milieu en Faunabeheer, Den Haag, Nederland.

MIRA-T, 2002. Milieu- en natuurrapport Vlaanderen, Achtergronddocument 2002, Verspreiding van zware metalen, Nouwen J., Van Hooste H., Vlaamse Milieumaatschappij, www.milieurapport.be.

MIRA, 2005a. Milieu- en natuurrapport Vlaanderen, Achtergronddocument 2005. Verspreiding van PCB's, M. Wevers, H. Van Hooste, Vlaamse Milieumaatschappij, http://www.milieurapport.be/AG.

MIRA, 2005b. Milieu- en natuurrapport Vlaanderen, Achtergronddocument 2005, Verspreiding van bestrijdingsmiddelen, S. Claeys, W. Steurbaut, S. Vergucht, I. Theuns, W. De Cooman, G. Goemans, C. Belpaire, E. De Wulf, H. Wustenberghs, R. Eppinger, M. Van Damme, S. Voorspoels, A. Covaci, H. D'Have, W. De Coen, B. Peeters, S. Overloop, Vlaamse Milieumaatschappij, www.milieurapport.be.

MIRA, 2005c. Milieurapport Vlaanderen, Achtergronddocument 2005, Verspreiding van zware metalen. B. De Raeymaecker, J. Provoost, E. Den Hond, P. Geuzens, M. Desmedt, E. Roekens, I. Theuns, W. De Cooman, L. Detemmerman, R. Eppinger, M. Van Damme, L. De Temmerman, G. Goemans, C. Belpaire, B. Vandecasteele, B. De Vos, J. Ceenaeme, D. Dedecker, F. De Naeyer, V. Dries, E. Gommeren, W. Van Dijck, E. Van Dyck, H. D'Have, B. Peeters, Vlaamse Milieumaatschappij, www.milieurapport.be.

MIRA, 2005d. Milieu- en natuurrapport Vlaanderen, Achtergronddocument 2005, Verspreiding van gebromeerde vlamvertragers, M. Wevers, S. Voorspoels, H. Van Hooste, Vlaamse Milieumaatschappij, http://www.milieurapport.be/AG.

MIRA, 2005e. Milieurapport Vlaanderen, Achtergronddocument 2005, Verspreiding van Perfluorverbindingen, K. Van de Vijver & H. Van Hooste, Vlaamse Milieumaatschappij, www.milieurapport.be.

MIRA, 2006. Milieurapport Vlaanderen, MIRA Achtergronddocument 2006, Kwaliteit oppervlaktewater, De Cooman W., B. Peeters, I. Theuns, G. Vos, S. Lammens, B. Meers, M. Van Erdeghem, G. Timmermans, R. Callebaut, I. Barrez, S. Van den Broeck, J. Emery, S. Van Volsem, K. Bursens, K. Van Hoof, T. D'Heygere, A. Beckers, K. Martens, M. Goris, K. Haustraete, C. Belpaire, J. Breine, G. Van Thuyne, A. Schneiders, A. Smis, Vlaamse Milieumaatschappij, http://www.milieurapport.be.

Mommsen, T.P., M.M. Vijayan & T.W. Moon, 1999. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. Reviews in Fish Biology and Fisheries 9: 211-268.

Monod, G., A. Gevaux & J.L. Rivière, 1988. Effects of chemical pollution on the activities of hepatic xenbiotic metabolising enzymes in fish from the river Rhone France. Science of the Total Environment 73: 189-202.

Moore, M.N. & Simpson, M.G., 1992. Molecular and cellular pathology in environment impact assessment. Aquatic Toxicology 22: 313.

Mora, M.A. & S.E. Wainwright, 1998. DDE, Mercury, and Selenium in Biota, Sediments, and Water of the Rio Grande-Rio Bravo Basin, 1965-1995. Review of Environmental Contamination and Toxicology 138: 1-52.

Morris, S., C.R. Allchin, B.N. Zegers, J.J.H. Haftka, J.P. Boon, C. Belpaire, P.E.G. Leonards, S.P.J. Van Leeuwen & J. de Boer, 2004. Distribution and fate of HBCD and TBBPA brominated flame retardants in North Sea estuaries and aquatic food webs. Environmental Science and Technology, 38: 5497-5504.

Munkittrick, K.R., M.E. McMaster, L.H. McCarthy, M.R. Servos & G.J. Van Der Kraak, 1998. An overview of recent studies on the potential of pulp-mill effluents to alter reproductive parameters in fish. Journal of Toxicology and Environmental Health B Critical Review 1(4): 347–371.

Murk, A.J., J.H.J. Van den Berg, M. Fellinger, M.J.C. Rozemeijer, C. Swennen, P. Duiven, J.P. Boon, A. Brouwer & J.H. Koeman, 1994a. Toxic and biochemical effects of 3,3',4,4'-tetrachloroiphenyl (CB77) and Cophen A50 on eider ducklings (*Somateria mollissima*) in a semi-field experiment. Environmental Pollution 86: 21-30.

Murk, A.J., A.T.C. Bosveld, M. van den Berg & A. Brouwer, 1994b. Effects of polyhalogenated aromatic hydrocarbons (PHAHs) on biochemical parameters of the common tern (*Sterna hirundo*). Aquatic Toxicololgy 30: 91-116.

Murk, A.J., P.E.G. Leonards, B. van Hattum, R; Luit, M.E.J. van der Weiden & M. Smit, 1998. Application of biomarkers for exposure and effect polyhalogenated aromatic hydrocarbons in naturally exposed European otters (*Lutra lutra*). Environmental, Toxicology and Pharmacology 6: 91-102.

Murty, A.S. & A.P. Davy, 1982. The effect of endosulfan and its isomers on tissue protein glycogen and lipids in the fish, *Channa punctatus*. Pesticide Biochemistry and Physiology 17: 280-286.

Narbonne, J.F. & J.L. Gallis, 1979. In vivo and in vitro effects of phenoclor DP6 on drug metabolising activity in mullet liver. Bulletin of Environmental Toxicology 23: 338-343.

NCI, 1977. National Cancer Institute. Bioassay of chlordane for possible carcinogenicity. Technical Report Series No. 8. U.S. Department of Health, Education and Welfare. NIH publication no. 77–808.

Nebert, D.W., 1989. The Ah-locus: Genetic differences in toxicity, cancer, mutations and birth defects. Critical Reviews in Toxicology 20: 153-174.

Nevo, E., R. Noy, B. Lavie, A. Beiles & S. Muchtar, 1986. Genetic diversity and resistance to marine pollution. Biological Journal of the Linnean Society 29: 139–144.

Newton, I., 1973. Egg breakage and breeding failure in British merlins. Bird Study, 20: 241-244.

Newton, I., J. Bogan, E. Meek & B. Little, 1982. Organochlorine compounds and shell-thinning in British merlins. Falco columbarius. Ibis, 124: 328-335.

Newton, I., 1986. The Sparrowhawk. T. & A.D. Poyser, Calto.

Nisbet, I.C.T. & L.M. Reynolds, 1984. Organochlorine residues in common terns and associated estuarine organisms, Massachusetts, USA. Marine Environmental Research 11: 33-66.

Nishida, M., T. Yamamoto, Y. Yoshimura, & J. Kawada, 1986. Subacute toxicity of methylmercuric chloride on mouse thyroid. Journal of Pharmacobiological Dynamics 9: 331-338.

Noël-Lambot, F. & J.M. Bouquegneau, 1977. Comparative study of toxicity, uptake and distribution of cadmium mercury in the sea water adapted eel *Anguilla anguilla*. Bulletin of environmental Contamination 18: 418-424.

Noren K. & D. Meironyte, 2000. Certain organochlorine and organobromine contaminants in Swedish human milk in perspective of past 20-30 years. Chemosphere 40: 1111–1123.

OECD, 2002. Hazard Assessment of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and its salts Organisation for Economic Co-operation and Development ENV/JM/RD(2002)17/FINAL, JT00135607.

Oliveira K., 1997. Movements and growth rates of yellowphase American eels in the Annaquatucket river, Rhode Island. Transactions of the American Fisheries Society 126: 638–646.

Oliveira, M., M.A. Santos, C. Gravato & M. Pacheco, 2003. Chromium effects on *Anguilla anguilla* liver organ culture. Fresenius Environmental Bulletin Vol. 12, no. 4: 349-352.

Oliveira Ribeiro, C.A., M. Schatzmann, H.C. Silva de Assis, P.H, Silva, E. Pelletier & F.M. Akaishi, 2002. Evaluation of tributyltin subchronic effects in tropical freshwater fish (*Astyanax bimaculatus*, *Linnaeus*, 1758). Ecotoxicology and Environmental Safety 51: 161–167.

Oliveira Ribeiro, C.A., Y. Vollaire, A. Sanchez-Chardi & H. Roche, 2005. Bioaccumulation and the effects of organochlorine pesticides, PAH and heavy metals in the Eel (*Anguilla anguilla*) at the Camargue Nature Reserve, France. Aquatic Toxicology 74: 53–69.

Oliver, B.G. & K.D. Nicol, 1982. Chlorobenzenes in Sediments, Water, and Selected Fish from Lakes Superior, Huron, Erie, and Ontario. Environmental Science and Technology, 16: 532-533.

Oliver, B.G. & A.J. Niimi, 1983. Bioconcentration of Chlorobenzenes from Water by Rainbow Trout: Correlations with Partition Coefficients and Environmental Residues. Environmental Science and Technology, 17: 287-291.

Olsson, M. & F. Sandegren, 1983. Is OCB partially responsible for the decline of the otter in Europe? In: Proceedings of the Third International Otter Symposium, *eds*. C. Kempf & N. Duplaix, Strassbourg, November 24-27, 1983.

Olsson, M. & F. Sandegren, 1991. Is PCB partly responsible for the decline of the otter in Europe? Proceedings, Habitat 6, 5th International Otter Symposium, Hanksbüttel, Germany, November 24-27, 1989, pp. 223-227.

Onkelinx,T. P. Quataert, J.Wouters, D. Bauwens, G. Genouw & B. Vandecasteele, 2006. Kwaliteitsvolle monitoring voor het beleid - Waterbodemmeetnet en palingpolluentenmeetnet. Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek, Geraardsbergen, INBO.IR.2006.8. p. 149.

OSPAR, 2006. Hazardous Substances Series: OSPAR Background Document on Perfluorooctane Sulphonate (PFOS), 2006 Update, publ. OSPAR Commission, ISBN 1-905859-03-1, Publication Number 269/2006: 46 pp.

OVAM, 2000. PCB-houdende toestellen: alles over je rechten en plichten als bezitter, http://www.ovam.be/brochures/pcb/index.asp.

Pacheco, M. & M.A. Santos, 1996. Introduction of micronuclei and nuclear abnormalities in the erythrocytes of *Anguilla anguilla* L. exposed either to cyclophosphoamide or to bleached kraft pulp mill effluent. Fresenius Environmental Bulletin 5: 746-751.

Pacheco, M. & M.A. Santos, 1997. Induction of EROD activity and genotoxic effects by polycyclic aromatic hydrocarbons and resin acids on the juvenile eel (*Anguilla anguilla* L.). Ecotoxicology and Environmental Safety 38: 252-259.

Pacheco, M. & M.A. Santos, 1999. Biochemical and genetic responses of adult eel (*Anguilla anguilla* L.) to resin acids and pulp mill effluent: laboratory and field experiments. Ecotoxicology and Environmental Safety 42: 81-93.

Pacheco, M. & M.A. Santos, 2002. Biotransformation, genotoxic, and histopathological effects of environmental contaminants in European eel (*Anguilla anguilla* L.). Ecotoxicology and Environmental Safety 53: 331-347.

Padros, J., E. Pelletier & C.A. Oliveira Ribeiro, 2003. Metabolic interactions between low doses of benzo[a]pyrene and tributyltin in artic charr (*Salvelinus alpinus*): a long-term in vivo study. Toxicology and Applied Pharmacology 192: 45–55.

Palstra, A.P., D. Curiel, M. Fekkes, M. de Bakker, C. Székely, V.J.T. van Ginneken & G.E.E.J.M. van den Thillart, 2005. Swimming stimulates oocyte development of European eel (*Anguilla anguilla* L.). Journal of Fish Biology, submitted.

Palstra, A. P., V. J. T. Van Ginneken, A. J. Murk. & G. E. E. J. M. Van Den Thillart, 2006. Are dioxin-like contaminants responsible for the eel (*Anguilla anguilla*) drama? Naturwissenschaften, Volume 93, Issue 3: 145-148.

Parker, S.J., 1995. Homing ability and home range of yellowphase American eels in a tidally dominated estuary. Journal of Marine Biology Association UK 75: 127-140.

Parslow, J.L.F. & D.J. Jefferies, 1977. Gannets and toxic chemicals. British Birds, 70: 366-372.

Patarnello, T. & B. Battaglia, 1992. Glucosephosphate isomerase and fitness — effects of temperature on genotype dependent mortality and enzyme-activity in 2 species of the genus *Gammarus* (Crustacea, Amphipoda). Evolution 46: 1568–1573.

Paustenbach, D.J., J.M. Panko, P. Scott & K. Unice, 2005. Retrospective modelling of potential residential exposure to perfluorooctanoic acid (PFOA) releases from a manufacturing facility. Poster EVN019 presented at Fluor symposium 2005.

Pedersen, T.V., M. Block & P. Pärt, 1998. Effect of selenium on the uptake of methyl mercury across perfused gills of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Aquatic Toxicology 40: 361-373.

Peters, L.D., A. Doyotte, C.L. Mitchelmore, J. McEvoy & D.R. Livingstone, 2001. Seasonal variation and estradiol-dependent elevation of Thames estuary eel *Anguilla anguilla* plasma vitellogenin levels and comparisons with other estuaries. The Science of the Total Environment 279(1–3): 137–150.

Peyon, P., S. Baloche & E. Burzawa-Gerard, 1997. Investigation into the possible role of androgens in the induction of hepatic vitellogenesis in the European eel: in vivo and in vitro studies. Fish Physiology and Biochemistry 16(2): 107–118.

Piatek, M., 1970. Age, growth and changes of weight proportions and of chemical composition of eel during its life in Polish waters. Acta Ichthyologica et Piscatoria 1: 73-96.

Pieters, H., 1991. Mercury in yellow eel (*Anguilla anguilla* L.) from inland waters of the Netherlands: Data analysis and trends. In: J. G. Farmer (Ed.). Heavy metals in the environment. Edinburgh: CEP Consultants. Vol. 2: pp. 224–227.

Pieters, H., S.P.J. van Leeuwen & J. de Boer, 2004. Verontreinigingen in aal en snoekbaars: monitor-programma ten behoeve van de Nederlandse sportvisserij 2003. RIVO-rapport C063/04.

Pierron, F., M. Baudrimonta, A. Bossya, J.-P. Bourdineauda, D. Brèthesb, P. Eliec & J.-C. Massa-buaua, 2007. Impairment of lipid storage by cadmium in the European eel (*Anguilla anguilla*). Aquatic Toxicology 81: 304-311.

Pijnenburg, A.M.C.M., J.W. Everts, J. de Boer & J.P. Boon, 1995. Polybrominated biphenyl and diphylether flame retardants: analysis, toxicity, and environmental occurrence. Reviews of Environ-mental Contamination and Toxicology, 141, 1-26.

Pizza, J.C. & J.M. O'Connor, 1983. PCB dynamics in Hudson River striped bass. II Accumulation from dietary sources. Aquatic Toxicology 3: 313-327.

Pocar, P., T.A. Brevini, B. Fischer & F. Gandolfi, 2003. The impact of endocrine disruptors on oocyte competence. Reproduction 125: 313–325.

Poole, W.R. & J.D. Reynolds, 1996. Growth rate and age at migration of *Anguilla anguilla*. Journal of Fish Biology 48: 633-642.

Posthuma, L. & N.M. Vanstraalen, 1993. Heavy-metal adaptation in terrestrial invertebrates—are view of occurrence, genetics, physiology and ecological consequences. Comparative Biochemistry and Physiology 106: 11–38.

Prestt, I., 1970. Organochlorine pollution of rivers and the heron (*Ardea cinerea* L.). 11th Technical Meeting, International Union for the Conservation of Nature & Natural Resources, New Delhi, 1: 95-102.

Purdom, C.E., P.A. Hardiman, V.J. Bye, N.C. Eno, C.R. Tyler & J.P. Sumpter, 1994. Estrogenic effects of effluents from sewage treatment works. Chemical Ecology 8: 275–285.

Pyron, M. & T.L. Beitinger, 1989. Effect of selenium reproductive behaviour and fry of fathead minnows. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 42: 609-613.

Quabius, E.S., P.H.M. Balm & S.E. Wendelaar Bonga, 1997. Interrenal stress responsiveness of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) is impaired by dietary exposure to PCB126. General and Comparative Endocrinology 108: 472-482.

Rainbow, P.S., 1989. Copper, cadmium and zinc concentrations in oceanic amphipod and euphausiid crustaceans, as a source of heavy metals to pelagic seabirds. Marine Biology 103 (4): 513 – 518.

Ratcliffe, D.A., 1970. Changes attributable to pesticides in egg breakage frequency and eggshell thickness in some British birds. Journal of Applied Ecology, 17: 67-107.

Ratcliffe, D.A., 1993. The Peregrine Falcon. 2nd edition. T. & A.D. Poyser, London.

Redding, J.M., A. DeLuze, J. Leloup-Hatey & J. Leloup, 1986. Suppression of plasma thyroid hormone concentrations by cortisol in the European eel *Anguilla anguilla*. Comparative Biochemistry and Physiology 83A: 409-413.

Regala, R.P., C.D. Rice, T.E. Schwedler & I.R.Dorociak, 2001. The effects of tributyltin (TBT) and 3,3k4,4k5-pentachlorobiphenyl (PCB-126) mixtures on antibody responses and phagocyte oxidative burst activity in channel catfish, Ictalurus punctatus. Archives of Environmental Contamination and Toxicology 40: 386–391.

Reijnders, P.J.H., 1980. Organochlorine and heavy metal residues in harbour seals from the Wadden Sea and their possible effects on reproduction. Netherlands Journal of Sea research 14: 30-65.

Reincke, H., T. Gaumert, J. Löffler, M. Bergemann, 2000. Schadstoffe in Elbefischen - Belastung und Vermarkutungsfähigkeit. Report der Arbeitsgemeinschft für die Reinhaltung der Elbe.

Rether, B., J-F. Masfaraud, G. Keith, A. Devaux & G. Monod, 1997. Biomarqueurs de géotoxicité chez les végétaux et les animaux. In Lagadic *et al.* (eds) Biomarqueurs en écotoxicologie, aspects fondamentaux. Paris: Masson, p. 185-208.

Rice, C.D. & D. Schlenk, 1995. Immune function and cytochrome P4501A activity after acute exposure to 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl (PCB126) in channel catfish. Journal of Aquatic Animal Health 7: 195-204.

Risebrough, R.W., P. Reiche, D.B. Peakall, S.G. Herman & M.N. Kerven, 1968. Polychlorinated biphenyls in the global system, Nature 220: 1098-1102.

Robinet, T.T. & E.E. Feunteun, 2002. Sublethal effects of exposure to chemical compounds: a cause for the decline in Atlantic eels? Ecotoxicology 11: 265–277.

Roche H., A. Buet, O. Jonot, F. Ramade, 2000. Organochlorine residues in European eel (*Anguilla anguilla*), crucian carp (*Carassius carassius*) and catfish (*Ictalurus nebulosus*) from Vaccares lagoon

(French National Nature Reserve of Camargue) - effects on some physiological parameters. Aquatic Toxicology 48: 443-459.

Roche H., A. Buet, F. Ramade, 2002. Accumulation of lipophilic microcontaminants and biochemical responses in eels from the Camargue Biosphere Reserve. Ecotoxicology 11: 155-164.

Roche, N., A. Buet & F. Ramade, 2003. Characterization and validation of ecotoxicological biomarkers in an eel population exposed to persistent organic pollutants in the Vaccares lake, French national reserve of Camargue. Revue D Ecologie–La Terre et La Vie, 58: 127–141.

Rodgers-Gray, T.P., S. Jobling, C. Kelly, S. Morris, G. Brighty, M.J. Waldock, J.P. Sumpter & C.R, Tyler. 2001. Exposure of juvenile roach (*Rutilus rutilus*) to treated sewage effluent induces dosedependent and persistent disruption in gonadal duct development. Environmental Science and Technology 35(3): 462–470.

Rødsæther, M.C., J. Olafsen, J. Raa, K. Myhre & J.B. Steen, 1977, Copper as an initiating factor of vibriosis (*Vibrio anguillarum*) in eel (*Anguilla anguilla*). Journal of Fish Biology 10: 17-21.

Roose, P. & U.A.Th. Brinkman, 1998. Determination of volatile organic compounds in marine biota. Journal of Chromatography A, 799: 233–248.

Roose, P., J. Dewulf, U.A.Th. Brinkman & H. Van Langenhove, 2001. Measurement of volatile organic compounds in sediments of the Scheldt estuary and the southern North Sea. Water Resources 35(6): 1478-1488.

Roose, P., G. Van Thuyne, C. Belpaire, M. Raemaekers & U. Brinkman, 2003. Determination of VOCs in yellow eel from various inland water bodies in Flanders (Belgium). Journal of Environmental Monitoring, 5: 876-884.

Ross, P.S., R.L. de Swart, P.J.H. Reijnders, H. Van Loveren, J.G. Vos & A.D.M.E. Osterhaus, 1995. Contaminant-related suppression of delayed-type hypersensitivity and antibody responses in harbour seals fed herring from the Baltic Sea. Environmental Health Perspectives 103: 162-167.

Ruangsomboon, S. & L. Wongrat, 2006. Bioaccumulation of cadmium in an experimental aquatic food chain involving phytoplankton (*Chlorella vulgaris*), zooplankton (*Moina macrocopa*), and the predatory catfish *Clarias macrocephalus* × *C. gariepinus*). Aquatic Toxicology 78: 15-20.

Ruddock, P. J., D.J. Bird, J. McEvoy & L.D. Peters, 2003. Bile metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in European eels Anguilla anguilla from United Kingdom estuaries. Science of the Total Environment 301: 105-117.

Safe, S., 1984. Polychorinated biphenyls (PCBs) and polybrominated biphenyls (PBBs): biochemistry, toxicology and mechanism of action. Critical Reviews in Toxicology 13: 319-395.

Safe, S., 1990. Polychlorinated biphenyls (PCBs), dibenze-*p*-dioxins (PCDDs), dibenzofurans (PCDFs), and related compounds: Environmental and mechanistic considerations which support the development of toxic equivalence factors (TEFs). Critical Reviews in Toxicology 21(10): 51-88.

Safe, S., 1994. Polychlorinated biphenyls (PCBs): environmental impact, biochemical and toxic responses, and implications for risk assessment. Critical Reviews in Toxicology 24(2): 87–149.

Sancho, E., M.D. Ferrando & A. Andreu, 1997. Sublethal effects of an organophosphate insecticide on the European eel, *Anguilla anguilla*. Ecotoxicology and Environmental Safety 36: 57-65.

Sancho, E., M.D. Ferrando & E. Andreu, 1998. Effects on sublethal exposure to a pesticide on levels of energetic compounds in *Anguilla anguilla*. Journal of Environnemental Science Part B33(4): 411-424.

Sandegren, F., M. Olsson & L. Reutergard, 1980. The decline of the fish otter population in Sweden (translated from German). In: The Fish Otter in Europe: Its Distribution, Endangerment and Preservation, *eds*. C. Reuther & A. Festetics. Results of the First International Colloquium on Otters, 28-31 October 1979, Gottingen, West-Germany, pp. 107-113.

Santillo, D., P. Johnston, I. Labunska & K. Brigden, 2005. Widespread presence of brominated flame retardants and PCBs in eels *(Anguilla anguilla)* from rivers and lakes in 10 European countries. Greenpeace Research Laboratories Technical Note 12/2005, publ. Greenpeace International, October 2005: 56 pp.

Santillo, D., M. Allsopp, A. Walters, P. Johnston & H. Perivier, 2006. Presence of perflorinated chemicals in eels from 11 European countries, Investigating the contamination of the European eel with PFCs, substances used to produce non-stick and water-repellant coatings for a multitude of products. Greenpeace Report 2006: p.31.

Santos, M.A. & A. Hall, 1990. Influence of inorganic lead on the biochemical blood composition of the eel, *Anguilla anguilla* L. Ecotoxicology and Environmental Safety 20(1): 7-9.

Santos, M.A., F. Pires & A. Hall, 2002. Metabolic effects of kraft mille effluents on the eel *Anguilla anguilla* L. Ecotoxicology and Environmental Safety 20: 10-19.

Schreck, C.B., 1990. Physiological, behavioural, and performance indicators of stress. American Fisheries Society Symposium 8: 29-37.

Schreier, S., S.V.P. Malheiros & E. de Paula, 2000. Surface active drugs: self-association and interaction with membranes and surfactants. Physicochemical and biological aspects. Biochimica et Biophysica Acta 1508: 210-234.

Schultz, R. & R.O. Hermanutz, 1990. Transfer of toxic concentrations of selenium from parent to progeny in the fathead minnow (*Pimephales promelas*) Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 45: 568-573.

Schwaiger, J., K. Fent, H. Stecher, H. Ferling & R.-D. Negele, 1996. Effects of sublethal concentrations of triphenyltriacetate on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Archives of Environmental Contamination and Toxicology 30: 327-334.

Seacat, A.M., P.J. Thomford, K.J. Hansen, L.A. Clemen, S.R. Eldridge, C.R. Elcombe & J.L. Butenhoff, 2003. Sub-chronic dietary toxicity of potassium perfluorooctanesulfonate in rats. Toxicology 183: 117-131.

Shailaja, M.S. & C. D'Silva, 2003. Evaluation of impact of PAH on a tropical fish. Oreochromis mossambicus using multiple biomarkers. Chemosphere 53: 835–841.

Simon, J., 2007. Age, growth and condition of European eel (*Anguilla anguilla*) from six lakes in the river Havel system (Germany). ICES Journal of Marine Science 64: 1-9.

Sinclair, E., D.T. Mayack, K. Roblee, N. Yamashita & K. Kannan, 2006. Occurrence of perfluoroalkyl surfactants in water, fish and birds from New York State. Archieves of Environmental Contamination and Toxicology 50: 398-410.

Singh, H., 1989. Interaction of xenophobics with reproductive endocrine functions in a teleost, *Monopterus albus*. Marine Environmental Research 28: 285-289.

Singh, P.B., 1992. Impact of malathion and γ-BHC on lipid metabolism in the freshwater female catfish, *Heteropneutes fossilis*. Ecotoxicology and Environmental Safety 23: 22-32.

Sivarajah, K., C.S. Franklin & W.P. Williams, 1978. The effects of polychlorinated biphenyls on plasma steroid levels and hepatic microsomal enzymes in fish. Journal of Fish Biology 13: 401-409.

Sjödin, A., K. Thuresson, L. Hagmar, E. Klasson-Wehler & Å. Bergman, 1999. Occupational exposure to polybrominated diphenyl ethers at dismantling of electronics – Ambient air and human serum analysis. Organohalogen Compounds 43: 447–450.

Slooff, W., R.F.M.J. Cleven, J.A. Janus & P. van der Poel, 1990. Integrated criteria document chromium. RIVM, rapportnr. 710401002, Bilthoven, Nederland.

Smit, M., P.E.G. Leonards, B. van Hattum & A.W.J.J. de Jongh, 1994. PCBs in European otter (*Lutra lutra*). Stichting Otterstation Nederland and Instituut voor Milieuvraagstukken, Amsterdam, the Netherlands, R94/7, p. 77.

Smit, M.D., P.E.G Leonards, A.J. Murk, A.W.J.J. de Jongh & B. van Hattum, 1996. Development of otter-based quality objectives for PCBs. Institute for Environmental Studies, Vrije Universiteit, Amsterdam, p. 129.

Smithwick, M., S.A. Mabury, K.R. Solomon, C. Sonne, J.W. Martin, E.W. Born, R. Dietz, A.E. Derocher, R.J. Letcer, T.J. Evans, G.W. Gabrielsen, J. Nagy, I. Stirling, M.K. Taylor & D.C.G. Muir, 2005. Circumpolar study of perfluoroalkyl contaminants in polar bears *(Ursus maritimus)*. Environmental Science & Technology 39(15): 5517-5523.

Snape, J.R., S.J. Maund, D.B. Pickford & T.H. Hutchinson, 2004. Ecotoxicogenomics: the challenge of integrating genomics into aquatic and terrestrial ecotoxicology. Aquatic Toxicology 67(2): 143-154.

So, M.K., S. Taniyasu, N. Yamashita, J.P. Giesy, J. Zheng, Z. Fang , S.H. Im & P.K.S. Lam, 2004. Perfluorinated compounds in coastal waters of Hong Kong, South China, and Korea. Environmental Science and Technology 38(15): 4056-4063.

Sohlenius, A-K., A. Messing Eriksson, C. Högström, M. Kimland & J.W. De Pierre, 1993. Perfluorooctane sulfonic acid is a potent inducer of peroxisomal fatty acid b-oxidation and other activities known to be affected by peroxisome proliferators in mouse liver. Pharmacology and Toxicology 72: 90-93.

Soontorchat, S., M-H. Li, P.S. Cooke & L.G. Hansen, 1994. Toxicokinetic and toxicodynamic influences on endocrine disruption by polychlorinated biphenyls. Environmental Health Perspectives 102: 568-571.

Spear, P.A., D.H. Bourbonnais, D.B. Peakall & T.W. Moon, 1989. Dove reproduction and retinoid (vitamin A) dynamics in adult females and their eggs following exposure to 3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl. Canadian Journal of Zoology, 67: 908-913.

Spies, R.B. & S.W.Jr. Rice, 1988. Effects of organic contaminants on reproduction of the starry flounder *Platichtys stallatus* in San Francisco Bay: 1. Hepatic contamination and mixed-function oxidases (MFO) activity during the reproductive season. Marine Biology 98: 191-200.

Spigarelli, S.A., M.M. Thommes & W. Prepejchal, 1983. Thermal and metabolic factors affecting PCB uptake by adult brown trout. Environmental Science and Technology 17: 88-94.

Spitsbergen, J.M., M.K. Walker, J.R. Olson & R.E. Peterson, 1991. Pathological alterations in early life stages of lake trout, *Salvelinus namaycush*, exposed to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin as fertilized eggs. Aquatic Toxicology 19: 41-72.

Stanton, M.L., B.A. Roy, D.A. Thiede, 2000. Evolution in stressful environments. I. Phenotypic variability, phenotypic selection, and response to selection in five distinct environmental stresses. Evolution 54: 93–111.

Starkov, A.A. & K.B. Wallace, 2002. Structural determinants of fluorochemical-induced mitochondrial dysfunction. Toxicological Sciences 66: 244-252.

STECF, 2006. Scientific, Technical and Economic Committee for Fisheries of the Commission of the European Communities, 22nd Report of STECF, draft version of 27 April 2006.

Steunpunt Milieu en Gezondheid, 2006. Vlaams humaan biomonitoringsprogramma milieu en gezondheid (2002-2006) jongeren campagne. Resultaten rapport bestemd voor intermediairen. Unpublished report.

Steyaert, B. & Gauderis, J., 1994. Overige nijverheid. In : Leren om te keren. Milieu- en Natuurrapport Vlaanderen. Verbruggen, A. (Ed), Vlaamse Milieumaatschappij, Garant Leuven-Apeldoorn, 129-142.

Stoeppler, M., 1991. Metals and their Compounds in the Environment: Occurrence, Analysis and Biological Relevance. VCH Publishers, Germany.

Stouthart, X.J.H.X., M.A.J. Huijbregts, P.H.M. Balm, R.A.C. Lock & S.E. Wendelaar Bonga, 1998. Endocrine stress response and abnormal development in carp (*Cyprinus carpio*) larvae after exposure of the embryos to PCB126. Fish Physiology and Biochemistry18: 321–329.

Sugatt, R.H., 1980. Effects of sodium dichromate exposure on the immune responses of juvenile coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, against *Vibrio anguillarum*. Journal Archives of Environmental Contamination and Toxicology Volume 9, Number 2: 207-216.

Sullivan, C.V., R.N. Iwamoto & W.W. Dickhoff, 1987. Thyroid hormones in blood plasma of developing salmon embryos. General and Comparative Endocrinolog 65: 337-345.

Sumpter, J.P., 1997. Endocrine responses to stress. In: Fish Stress and Health in Aquaculture (G.K. Iwama, J.P. Sumpter, A.D. Pichkering & C.B. Schreck, Eds.) Cambridge, UK: p. 95-118.

Sures, B., K. Knopf & W. Kloas, 2001. Induction of stress by the swimbladder nematode *Anguillicola crassus* in European eels, *Anguilla anguilla*, after repeated experimental infection. Parasitology 123: 179-184 .

Sures, B. & K. Knopf, 2004. Individual and combined effects of cadmium and 3,3k,4,4k,5-pentachlorobiphenyl (PCB126) on the humoral immune response in European eel (*Anguilla anguilla*) experimentally infected with larvae of *Anguillicola crassus* (Nematoda). Parasitology 128: 445-454.

Sures, B., 2006. How parasitism and pollution affect the physiological homeostasis of aquatic hosts. Journal of Helminthology 80: 151-157.

Suresh, A., B. Sivaramakrishna & K. Radhakrishnaiah, 1993. Patterns of cadmium accumulation in the organs of fry and fingerlings of freshwater fish *Cyprinus carpio* following cadmium exposure. Chemosphere 26: 945–953.

Svedäng, H. & H. Wickström, 1997. Low fat contents in female silver eels: indications of insufficient energetic stores for migration and gonadal development. Journal of Fish Biololgy 50(3): 475–486.

Sweet, C. W. & S. J. Vermette, 1992. Toxic volatile organic compounds in urban air in Illinois. Environmental Science and Technology, 264: 165–173.

Tamade, Y., S. Shibukawa, H. Osaki, S. Kashimoto, Y. Yagi & S. Sakai, 2002. A study of brominated compounds release from appliance-recycling facility. Organohalogen compounds, 56: 189-92.
Taniyasu, S., K. Kannan, *et al*. 2003. "A survey of perfluorooctane sulfonate and related perfluorinated organic compounds in water, fish, birds, and humans from Japan." Environ. Sci. Technol. 37(12): 2634-2639.

Teh, S.J., S.M. Adams & D.E. Hinton, 1997. Histopathologic biomarkers in feral freshwater fish populations exposed to different types of contaminants stress. Aquatic Toxicology 37: 51-70.

Teles, M. , M. Pacheco & M.A. Santos, 2005. Physiological and genetic responses of European eel (*Anguilla anguilla* L.) to short-term chromium or copper exposure - Influence of preexposure to a PAH-like compound. Environmental Toxicology Volume 20, Issue 1: 92 – 99.

Tesch, F.W., 1968. Age and growth. In: Methods for assessment of fish production in freshwaters. W.E. Ricker (Ed.). Blackwell Scientific Publications, Oxford. Pp. 93-123.

Tesch, F-W., 1977. The eel. Biology and management of anguillid eels. Chapman and Hall Ltd., Edingburgh, 434 pp.

Tesch, F.W., 2003. The Eel. Blackwell Science, Oxford, UK.

Thomas, R.E., C. Brodersen, M.G. Carls, M. Babcock & S.D. Rice, 1999. Lack of physiological responses to hydrocarbon accumulation by *Mytilus trossulus* after 3–4 years chronic exposure to spilled Exxon Valdez crude oil in Prince William Sound. Comparative Biochemistry and Physiology 122: 153–163.

Thomé, J.P, A. Bertrand, F. Brose, O. Carabin, E. De Pauw, C. Dukmans, G. Eppe, P. Gaspar, A. Leroy, M. Louvet, G. Maghuin-Rogister, Y. Marneffe, A. C. Massart, J.C. Philippart, G. Rimbaut & M.L. Scippo, 2004. Evaluation du niveau de contamination des rivières par les PCBs et les dioxines. Rapport Université de Liège. Convention avec la Région Wallonne, Ministère de l'Aménagement du Territoire, de l'Urbanisme et de l'Environnement, *Engagement n° 01/4143,* p.167.

Thorpe, J.E., J.F. Koonce, D. Borgeson, B. Henderson, A. Lamsa, P.S. Maitland, M.A. Ross, R.C. Simon & C. Walters, 1981. Assessing and managing mans impact on fish genetic resources. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science 38: 1899–1907.

Thuvander, A. & M. Carlstein, 1991. Sublethal exposure of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to polychlorinated biphenyls: effect on the humoral response to *Vibrio anguillarum*. Fish & Shellfish Immunology 1: 77-86.

Thuvander, A., E. Wiss & L. Norrgren, 1993. Sublethal exposure of rainbow trout to Clophen A50: effects on cellular immunity. Fish & Shellfish Immunology 3: 107-118.

Toivola, D.M. & B. Isomaa, 1991. Effects of dehydroabietic acid on the erytrocyte membrane. Chemical – Biological Interactions 79: 65-78.

Traas, T.P., R. Luttik, O. Klepper, J.E.M. Beurskens, M.D. Smit, P..E.G. Leonards, A.G.M. Van Hattum & T. Aldenberg, 2001. Congener-specific model for polychlorinated biphenyl effects on otter (*Lutra lutra*) and associated sediment quality criteria. Environmental Toxicology and Chemistry 20 (1): 205-212.

Tulonen J. & P.J. Vuorinen, 1996. Concentrations of PCBs and other organochlorine compounds in eels (*Anguilla anguilla*, L.) of the Vanajavesi watercourse in southern Finland, 1990-1993. Science of the Total Environment 187: 11–18.

Tuurala, H. & A. Soivio, 1982. Structural and circulatory changes in the secondary lamellae of *Salmo gairdneri* gills after sublethal exposure to hydroabietic acid and zinc. Aquatic toxicology 2: 21-29.

Tyler, C.R., S. Jobling & J.P. Sumpter, 1998. Endocrine disruption in wildlife. Critical Reviews in Toxicology 28(4): 319–361.

Usero, J., C. Izquierdo, J. Morillo & I. Gracia, 2003. Heavy metals in fish (*Solea vulgaris*, *Anguilla anguilla* and *Liza aurata*) from SALT marshes on the southern Atlantic coast of Spain. Environment International 29: 949–956.

USFWS, 1981. Chlorinated hydrocarbons as a factor in the reproduction and survival of lake trout (*Salvelinus namaycush*) in Lake Michigan. U.S. Fish and Wildlife Service Technical paper 105., pp. 42.

van Aerle, R., T.M. Nolan, S. Jobling, L.B. Christiansen, J.P. Sumpter & C.R. Tyler, 2001. Sexual disruption in a second species of wild cyprinid fish (the gudgeon, *Gobio gobio*) in United Kingdom freshwaters. Environmental Toxicology and Chemistry 20(12): 2841–2847.

van Campenhout, K. 2004. Metal accumulation, speciation, and toxicity relationships in freshwater fish: an experimental and field analysis. PhD thesis, University of Antwerp, Antwerp, p. 235.

Vandenabeele, P., C. Belpaire, B. Denayer, J. Beyens, R. Yseboodt, L. Samsoen, G. Van Thuyne & J. Maes, 1998. De visstand en de bevissing van de Vlaamse binnenwateren, Water 100:150-164.

Vandenbergh, G.; T. Verslycke, C. Janssen, W. De Coen, F. Comhaire, W. Dhooge & K. Callebaut, 2002. Evaluatie van de impact van endocrien verstorende stoffen op het Noordzee-ecosysteem. EM-RGent/ECOLAS/Onderzoeksgroep Milieutoxicologie Universiteit Gent: Gent, Belgium. 1 cd-rom.

Van den Berg, M., F. Blank, C. Heeremans, H. Wagenaar & K. Olie, 1987. Presence of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and polychlorinated dibenzofurans in fish-eating birds and fish from The Netherlands. Chemistry and Materials Science and Earth and Environmental Science 16(2): 149-158.

van den Thillart, G., 1982. Adaptations of fish energy metabolism to hypoxia and anoxia. Molecular Physiology 2: 49-61.

van den Thillart, G., V. van Ginneken, F. Körner, R. Heijmans, R. van der Linden & A. Gluvers, 2004. Endurance swimming of European eel. Journal of Fish Biology 65: 1-7.

van den Thillart, G.E.E.J.M., S. Dufour, P. Ellie, F. Volkaert, P. Sebert, C. Rankin, C. Szekely & J. van Rijsingen, 2005. Estimation of the reproduction capacity of European eel: EELREP FINAL REPORT. p.272.

Van der Oost R., A. Opperhuizen, K. Satumalay, H. Heida, N.P.E. Vermeulen, 1996. Biomonitoring aquatic pollution with feral eel (*Anguilla anguilla*) .1. Bioaccumulation: Biota-sediment ratios of PCBs, OCPs, PCDDs and PCDFs. Aquatic Toxicology 35: 21–46.

Van der Werf, H.M.G., 1996. Assessing the impact of pesticides on the environment. Agriculture Ecosystems & Environment 60: 81-96.

van Ginneken, V.J.T. & G.E.E.J.M. Van den Thillart, 2000. Eel fat stores enough to reach the Sargasso. Nature 403: 156-157.

van Ginneken, V.J.T., B. Balm, V. Sommandas, M. Onderwater & van den Thillart, G.E.E.J.M., 2002. Acute stress syndrome of the yellow European eel (*Anguilla anguilla* Linnaeus) when exposed to a graded swimming-load. Netherlands Journal of Zoology 52: 29-42.

van Ginneken, V., E. Antonissen, U.K. Muller, R. Booms, E. Eding, J. Verreth, & G. van den Thillart, 2005a. Eel migration to the Sargasso: remarkably high swimming efficiency and low energy costs. The Journal of Experimental Biology 208: 1329-1335.

van Ginneken, V.J.T., B. Ballieux, R. Willemze, K. Coldenhoff, E. Lentjes, E. Antonissen, O. Haenen & G.E.E.J.M. van den Thillart, 2005b. Hematology patterns of migrating European eels and the role of EVEX virus. Comparative Biochemistry and Physiology C Toxicology and Pharmacology, 140(1): 97-102.

van Leeuwen, C. & J. Hermens, 1995. Risk assessment of chemicals: an introduction. Kluwer Academic Pub, Dordrecht, The Netherlands.

van Leeuwen, S.P.J., W.A. Traag, L.A.P. Hoogenboom & J. de Boer, 2002. Dioxins, furans and dioxin-like PCBs in wild, farmed, imported and smoked eel from the Netherlands. RIVO Rapport C034/02.

Van Thuyne, G. & C. Belpaire, 1997. Veldprotocol afvissingen. Instituut voor Bosbouw en Wildbeheer, IBW.Wb.V.IR.97.56.

Van Thuyne G., C. Belpaire, M. Guns & B. Denayer, 1995. Monitoring van de vispopulaties en de visvleeskwaliteit op het Boudewijnkanaal. Rapport Instituut voor Bosbouw en Wildbeheer, Groenendaal, IBW.Wb.V.R.94.031.

Versonnen, B.J., G. Goemans, T. Verslycke, K. Arijs, C. Belpaire & C.R. Janssen, 2003. First monitoring of the occurrence of endocrine disruption in inland populations of eel (*Anguilla anguilla*), roach (*Rutilus rutilus*), rudd (*Scardinius erythrophtalmus*) and tench (*Tinca tinca*) in Flanders (Belgium). SETAC U.K./SETAC Europe meeting on endocrine disrupters in the environment - Linking research and policy, March 31st-April 1st 2003, York, U.K.

Versonnen, B.J., G. Goemans, B. Belpaire & C.R. Janssen, 2004. Vitellogenin content in European eel (*Anguilla anguilla*) in Flanders, Belgium. Environmental Pollution 128: 363-371.

Vethaak, A.D. & ap Reinhalt, 1992. Fish disease as a monitor for marine pollution: the case of the North Sea. Reviews in Fish and the Biology of Fisheries 2: 1-32.

Vethaak, .A.D, J. Lahr, R.V. Kuiper, G.C.M. Grinwis, T.R. Rankouhi, J.P. Giesy & A. Gerritsen, 2002. Estrogenic effects in fish in the Netherlands: some preliminary results. Toxicology 181-182: 147–150.

Vijayan, M.M. & J.F. Leatherhand, 1989. Cortisol-induced changes in plasma glucose, protein, and thyroid hormone levels, and liver glycogen content of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch* Walbaum). Canadian Journal of Zoology – Revue Canadienne de Zoology 67: 2746-2750.

Vilter, V., 1946. Action de la thyroxine sur la métamorphose larvaire de l'anguille. C.R. Soc. Biol. Paris 140: 783-785.

Viluksela, M., M. Unkila, R. Pohjanvirta, J.T. Tuomisto, B.U. Stahl, K.K. Rozman & J. Tuomisto, 1999. Effects of 2,3,7,8- tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) on liver phosphoenolpyruvate carboxykinase

(PEPCK) activity, glucose homeostasis and plasma amino acid concentrations in the most TCDD-susceptible and the most TCDD-resistant rat strains. Archives of Toxicology 73: 323–336.

Virtanen, M.T., 1986. Histopathological and structural changes in the gill of *Poecilia reticulatus* induced by an organochlorine pesticide. Journal of Environmental Pathology and Toxicology and Oncology 7: 73-86.

Vlaamse Milieumaatschappij, 2002. Waterbodemkwaliteit 2001. VMM, Aalst.

Walker, M.K., R.E. Peterson, 1991. Potencies of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxin, dibenzofuran, and biphenyl congeners, relative to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin, for producing early life stage mortality in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). AquaticToxicology 21:219-238.

Walker, M.K., P.M. Cook, A.R. Batterman, B.C. Butterworth, C. Berini, J.J. Libal, L.C. Hufnagle & R.E. Peterson, 1994. Translocation of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin from adult female Lake Trout (*Salvelinus namaycush*) to oocytes: effects on early life stage development and sac fry survival. Canadian Journal of Fish Aquatic Science 51: 1410-1419.

Walton, D.G., L.L. Fancey, J.M. Green, J.W. Kiceniuk & W.R. Penrose, 1983. Seasonal changes in aryl hydrocarbon hydroxylase activity of a marine fish *Tautogolabrus adspersus* (Walbaum) with and without petroleum exposure. Comparative Biochemistry and Physiology C76: 247-253.

Warriner, J.E., E.S. Mathews & B.A. Weeks, 1988, Preliminary investigations of the chemiluminiscent response in normal and pollutant-exposed fish. Marine Environmental Research 24: 281-284.

Watanabe, I. & R. Tatsukawa, 1990. Anthropologenic brominated aromatics in the Japanese environment. Proceedings Workshop on Brominated Flame Retardants, Skloster, 24-26 October 1989, KEMI, National Chemicals Directorate, Sweden, p. 63-71.

Weatherley N.S., G.L. Davies, S. Ellery, 1997. Polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in eels (*Anguilla anguilla* L.) from Welsh rivers. Environmental Pollution 95: 127-134.

Weber, G.W., D.K. Okimoto, N.H. Richman & E.G. Grau, 1992. Patterns of thyroxine and triiodothyronine in serum and follicle-bound oocytes of the tilapia, *Oreochromis mossambicus* during oogenesis. General and Comparative Endocrinology 85: 392.

Weeks, B.A., R.J. Huggett, J.E. Warriner & E.S. Mathews, 1990. Macrophage responses of estuarine fish as bioindicators of toxic contamination. In: Biomarkers of Environmental Contamination. (McCarthy, J.F., & L.R. Shugart, *eds*.). Broca Raton, FL: Lewis Publishers. p. 193-201.

Weltens R., G. Goemans, G. Huyskens, H. Witters & C. Belpaire, 2002. Wetenschappelijke onderbouwing voor de normering van polluenten in Vlaamse oppervlaktewateren en selectie van ecologische en exotoxicologische indicatoren voor de waterkwaliteit. Rapport voor VMM, VITO en IBW, IBW.Wb.VR.2002.88.

Wendelaar Bonga, S.E. & R.A.C. Lock, 1992. Toxicants and osmoregulation in fish. Netherlands Journal of Zoology 42: 478-493.

Wendelaar Bonga, S.E., 1997. Stress in fish. Physiological Zoology 77: 591-625.

Weseloh, D.V., T.W. Custer & B.M. Braune, 1989. Organochlorine contaminants in eggs of common terns from the Canadian Great Lakes, 1981. Environmental Pollution 59: 141-160.

Wester, P.W., J.H. Canton & A. Bisschop, 1985. Histopathological study of *Poecillia reticulata* (guppy) after long-term β-hexachlorocyclohexane ewposure. Aquatic Toxicology 6: 271-296.

Westfall, B.A., 1945. Coagulation film anoxia in fishes. Ecology 26: 283-287.

Westin, L., 2003. Migration failure in stocked eels *Anguilla anguilla*. Marine Ecology Progress Series 54: 307–311.

WG Eel, 2006. FAO European Inland Fisheries Advisory Commission; International Council for the Exploration of the Sea. Report of the 2006 session of the Joint EIFAC/ICES Working Group on Eels. Rome, 23–27 January 2006. EIFAC Occasional Paper. No. 38, ICES CM 2006/ACFM:16. Rome, FAO/Copenhagen, ICES. 2006. 352 p.

WHO, World Health Organization, 1998. Environmental Health Criteria 205: Polybrominated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans, World Health Organization, Geneva, 1998.

WHO, World Health Organization, 2000. Air quality guidelines for Europe, 2nd Ed. WHO Regional Publications, European Series, No. 91. Regional Office for Europe, Kopenhagen, Denemarken.

Wiemeyer, S.N., T.G. Lamont, C.M. Bunck, C.R. Sindelar, R.J. Gramlich & J.D. Fraser, 1984. Organochlorine pesticide, polychlorobiphenyl, and mercury residues in bald eagle eggs – 1969-79- and their relationships to shell thinning and reproduction. Archieves of Environmental Contamination and Toxicology 13: 529-549.

Wiesmüller, T. & B. Schlatterer, 1999. PCDDs/PCDFs and coplanar PCBs in eel (*Anguilla anguilla*) from different areas of the rivers Havel and Oder in the state of Brandenburg (Germany). Chemosphere 38 (2): 325-334.

Wilson, D.N., 1988. Cadmium – market trends and influences. In: Cadmium 87. Proceedings of the 6th International Cadmium Conference, London, Cadmium Association.

Witters H., P. Berckmans & C. Vangenechtenn, 2000. Detection of estrogenic activity in Flemish surface waters using and in vitro recombinant assay with yeast cells. Water, Science & Technology, 43(2): 117-123.

Witters H., P. Berckmans, C. Vangenechten, F. Comhaire, W. Dhooge, L. Hens, A. Verspecht, J. De Wit, A. Hoebeeck & J. Lafère, 2003. Opsporen van de verspreiding en effecten van stoffen met hormoonverstorende werking in Vlaamse waters. Eindrapport PBO-project 099A/32/62. VITO-rapport 2003/TOX/R/061. Zie ook op AWI-website: http://www.innovatie.vlaanderen.be/pbo/eindrapporten/PBO099A_32_62.pdf.

Wolff, G., D. Roberts & R. Morrissey, 1987. Tumorigenic responses to lindane in mice: potentiation by a dominant mutation. Carcinogenesis 8: 1889–1897.

Wolkers, J., E.H. Jørgensen, S.M. Nijmeijer & R.F. Witkamp, 1996. Time-dependent induction of two distinct hapatic cytochrome P450A catalytic activities at low temperatures in Arctic char (*Salvelinus alpinus*) after oral exposure to benzo[a]pyrene. Aquatic Toxicology 35: 127-138.

Woock S.E., W.T. Bryson, K.A. MacPherson, M.A. Mallin & W.E. Partin, 1985. 'Roxboro Steam Electric Plant – Hyco Reservoir 1984 Bioassay study'. Technical report, Carolina Power and Light Company, New Hill, NC.

Woock, S.E. & P.B. Summers, 1984. 'Selenium monitoring in Hyco Reservoir (NC) Waters (1977-1981) and Biota (1977-1980)', in Workshop Proceedings: The effect of trace elements on aquatic ecosystems. Publications EA-3329.Electric Power Research Institute, Palo Alto, CA. pp. 6-1 to 6-27.

Woock, S.E., W.R. Garrett, W.E. Partin & W.T. Bryson, 1987. Decresed survival and teratogenesis during laboratory selenium exposures to bluegill, *Lepomis macrochirus*. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 39: 998-1005.

Wren, C.D., 1985. Probable case of mercury poisoning in a wild otter, *Lutra canadensis*, in North-Western Ontario. Canadian Field-Naturalist 99: 112-114.

Wren, C.D., 1991. Cause-effect linkages between chemicals and populations of mink (*Mustela vison*) and otter (*Lutra Canadensis*) in the Great Lakes basin. Journal of Toxicology and Environmental Health 33: 549-585.

Yadav, A.K. & T.P. Singh, 1987. Pesticide-induced impairment of thyroid physiology in the freshwater catfish, *Heteropneutes fossilis*. Environmental Pollution 43: 29-38.

York, R.G., M.T. Case & M.S. Christian, 2000. Rat and rabbit oral developmental toxicology studies with two perfluorinated compound administered orally. International Journal of Toxicology 19: 35.

Zalups, R.K., 2000. Molecular interactions with mercury in the kidney. Pharmacological Review 52: 113-143.

Zhu, J.-Y., H.-Q. Huang, X.-D. Bao, Q.-M. Lin & Z. Cai, 2006. Acute toxicity profile of cadmium revealed by proteomics in brain tissue of *Paralichthys olivaceus*: Potential role of transferrin in cadmium toxicity. Aquatic Toxicology 78: 127-135.

Zimmermann, S., B. Sures & H. Taraschewski, 1999. Experimental studies on lead accumulation in the eel specific endoparasites *Anguillicola crassus* (Nematoda) and *Paratenuisentis ambiguus* (Acanthocephala) as compared with their host, *Anguilla anguilla*. Archives of Environmental Contamination and Toxicology 37: 190-195.

BIJLAGEN

Bijlage 1

Tabel 1: Overzicht van een aantal verontreinigende stoffen, hun schadelijke concentraties en de gevolgen voor paling.

Verontreinigende stof	Dosis	Vissoort	Effecten	Referenties
PCB126	50 µg kg^{-1} vis/dag	Tilapia (*Oreochromis mossamicus*)	Gevoeligheid HPI-as (verhinderen ACTH-activiteit van de cortisol producerende interrenale cellen)	Quabius *et al*., 1997
PCB + Cd	Cd: H_2O ~22 µg l^{-1} PCB: 100 ng g^{-1} BW	Europese paling geïnfecteerd met parasiet *Anguillicola crassus*	Blootstelling aan beide stoffen: ontwikkeling parasiet niet beïnvloed Blootstelling aan PCB126 alleen of in combinatie met Cd: onderdrukking respons	Sures & Knopf, 2004
γ-HCH of lindaan			Verstoring schildklierwerking bij vissen	Yadav & Singh, 1987
malathion			Verstoring schildklierwerking bij vissen	Lal & Singh, 1987; Singh, 1992
endosulfaan			Verstoring schildklierwerking bij vissen	Murty & Devi, 1982
2,3,7,8-PCDD en –PCDF			Verstoring schildklierwerking bij vissen	Safe, 1990
para- en *meta*vorm van 2,3,7,8-TCDD		snoek, karper, regenboogforel, Europese paling	Verstoring schildklierwerking bij vissen Embryonale misvormingen	Safe, 1990 Walker & Peterson 1991; Helder 1980; Stouthart *et al*. 1998; Walker *et al*. 1994
	4 ng TEQ kg^{-1} vis		Negatieve correlatie tussen dioxineachtige contaminanten en de embryo overleving en ontwikkeling	Palstra *et al*., 2006
PAK's			Verstoring schildklierwerking bij vissen	Leatherland & Sonstegard, 1977; 1978; 1980
diazinon	0,042 mg l^{-1} (0,50% van het	Europese paling	remmende effecten op de cholinesterase activiteit (variërend van > 70% remming in het hersenweefsel tot > 90% remming in plas-	Ceron *et al.,* 1996

	96h LC50)		mamonsters)	
thiobencarb	1/60 LC50-96h = 0,22 mg l^{-1}	Europese paling	significant remmende werking op de plasma AChE-activiteit vanaf het eerste contactmoment met het vergif	Fernandez-Vega *et al.,* 1999
fenitrothion	0,02 en 0,04 mg l^{-1}	Europese paling	Lagere vetreserves Voortdurende hyperglykemie; spectaculaire stijging in de bloed-, lever- en kieuwlactaatwaarden; afname van de proteïnen.	Sancho *et al.,* 1998 Ferrando & Andreu, 1991a; Gimeno *et al*., 1994
chemische stoffen		Europese en Amerikaanse paling	Energiekosten ten gevolge van chemische stress hebben zowel op korte als lange termijn consequenties op de groei en de reproductie.	Calow, 1991
dieldrin			Heeft een 6 tot 14 keer grotere chronische letale toxiciteit dan DDT	DeWitt *et al*., 1960
Pb	> 300 µg l^{-1} (bloed) 300 µg l^{-1} (bloed) gemiddeld gewicht 50 g)	forel Europese paling	Toxiciteit Toegenomen aantal lymfocyten en plasmalactaatwaarden	Hodson *et al*., 1984 Santos & Hall, 1990
	H_2O: 5 µg l^{-1} Bloed: 300 µg l^{-1}	regenboogforel	ALA-D activiteit geïnhibeerd	Hodson *et al*., 1984
kwikchloride ($HgCl_2$)	0,02 ppm $HgCl_2$: 4 µmol dm^{3-1} $CdCl_2$: 445 µmol dm^{3-1}	Japanse paling	Hoogste getolereerde concentratie bij 20-22°C gedurende 50h Veroorzaakt mortaliteit bij Europese paling na 5-10 uren blootstelling	Bruslé, 1987 Noël-Lambot & Bouquegneau, 1977; Bruslé, 1989
	Hg: 1 ppm Cd: 50 ppm	Europese paling	Letale dosis; de LC50 96h waarde van Cd op glasaal is hoger dan 20 000 µg l^{-1}	Bruslé, 1987
Cd	acute cadmium-blootstelling (1,0; 2,0; 3,0; 5,0; 10,0; 15,0 en 20,0 ppm	*Paralichthys olivaceus*	Onregelmatig zwemgedrag vertonen en overdreven mucusproductie op het operculum. Hyperventilatie na 24h blootstelling aan Cd concentraties van 3,0 en 5,0 ppm en dat werd erger na 24h blootstelling aan 10,0 en 15,0 ppm Cd. Mortaliteit na 24h blootstelling aan 20,0 ppm Cd.	Zhu *et al*., 2006

			Acute Cd^{2+} blootstelling levert necrosis en celschade op in de nieren, lever, het testikelweefsel en de hersenen terwijl een chronische blootstelling schade toebrengt aan de nieren en de beenderen.	
	5 µg l^{-1} (2 uren)	jonge gele paling	Zwelling van de primaire en secundaire lamellen; melanismen in de kieuwbloedvaten; toename in mucuscellen; verwondingen zoals afschilfering van het epitheel en het uiteenvallen of versmelten van lamellen	Gony, 1987)
	0,5-50 µM, in één uur incubatie		Remming K^{+}-ATPase activiteiten; remming koolstofanhydrase activiteiten; wijziging in zuur-base evenwicht en osmoregulatie	Lionetto *et al*., 1998
	150 µg l^{-1} (16 weken)	Amerikaanse paling	Verhoging van de plasma cortisolwaarden	Gill *et al*., 1993
lindaan		Europese paling	Afname van de lever- en het spierglycogeen en toename van glucosewaarden in het bloed.	Ferrando & Andreu, 1991b
Zn – Cu - Cd	Zn: 250 µg l^{-1} Cu: 3 µg l^{-1} Cd: 75 µg l^{-1}	regenboogforel	Eetlust nam toe bij aan Cu en af en bij aan Cd blootgestelde forel; De kritische zwemsnelheid nam significant af bij chronische Cu blootstelling. De Na^{+}/K^{+}-ATPase activiteit in de kieuwen werd bij Cu-blootstelling verhoogd maar niet bij Cd-blootstelling.	McGeer *et al*., 2000
Se	40-67 µg g^{-1} (drooggewicht	vis	Teratogene effecten: lordosis, kyfose, scoliose en vervorming van de kop, mond en vinnen. Andere aangetroffen abnormaliteiten waren oedeem, exopthalmus en cataract. De vervormingen aan skelet, vinnen en kop werden bij juveniele vissen aangetroffen terwijl oedeem, exopthalmus en cataract ook bij adulte vissen werden gevonden.	Lemly, 1993
Cu	30-60 µg	Europese paling	Vibriose Afname groeisnelheid	Rødsæther *et al*,. 1977 Buckley *et al*., 1982; Collvin, 1984
Cu – BNF	Cu: 1 microM, 2,5 microM) BNF: 2,7 microM	Europese paling	Toename peroxidatieve stress	Ahmad *et al*., 2005
Cr	0,0 of 0,5 mg Cr l^{-1}	cohozalm	Toename mortaliteit; remming van de serum agglutinine productie	Sugatt, 1980

	3–4 × $10^{2–5}$ bacteries ml^{-1} dosis *V. anguillarum*			
Cr – Cu – BNF	Cr: 100 M en 1 mM Cu: 1 en 2,5 M BNF: 2,7 M	Europese paling	Blootstelling aan Cr: daling vrij thyroxine, stijging plasma glucose Blootstelling aan Cu: stijging van het plasma cortisol en glucose en het plasma lactaat, daling thyroxine. Eerdere blootstelling aan BNF verhinderde een toename in het plasma cortisol en lactaat terwijl een grotere toename in T_4 gezien werd bij 2,5 M Cu blootstelling. Deze voorbehandeling met BNF was cruciaal voor de genotoxische expressie daar alleen BNF +2,5 M Cu blootgestelde vissen een significante ENA-inductie vertoonden. In het algemeen was T4 het meest beïnvloedde hormoon dat zowel op Cr als op Cu blootstelingen reageerde.	Teles *et al*., 2005
Cr –BNF	Cr: 100 microM, 1 mM BNF; 2,7 microM, 24h	Europese paling	In de kieuwen trad een daling van de GSH op tezamen met een verlies aan DNA-integriteit bij alle condities uitgezonderd bij de laagste Cr-concentratie.	Ahmad *et al*., 2006
BNF	4 mg kg^{-1}	Europese paling	Invloed op EROD-activiteit	Oliveira *et al*., 2003
VOC	1,61 mg l^{-1}	regenboogforel	Letale dosis voor 1,2-dichloro-benzeen	Ahmad *et al*., 1984

Tabel 2: Overzicht van een aantal verontreinigende stoffen, hun schadelijke concentraties en gevolgen voor palingpredatoren en een aantal andere diersoorten.

Verontreinigende stof	Concentratie	Soort	Effecten	Referenties
PCB	gemiddeld 27,4 ppm (BW) variërende tussen 3,3-72,3 ppm	zeehond	Geen of onvolledige innesteling; geen zwangerschap; geboortegewicht van de jongen is lager	Reijnders, 1980
	PCB's: 1,5 mg *pp*'-DDE: 0,4 mg hoog gecontamineerd dieet PCB's: 0,22 mg	zeehond	Gereduceerde plasma retinol en thyroïdhormoon waarden die kunnen resulteren in een toegenomen gevoeligheid voor microbiële infecties, voortplantingsstoornissen en andere pathologische veranderingen	Brouwer *et al*,.1989

	pp'-DDE: 0,13 mg het laag gecontamineerd dieet.			
	10 µg g^{-1}	nerts	Mislukte reproductie	Wren, 1991
	1,3 ppm BW	otter	Verminderd reproductiesucces	Kruuk *et al*., 1993
	< 9 µg totale PCB's g^{-1} vet ≥ 21 µg totale PCB's g^{-1} vet ≥ 50 µg totale PCB's g^{-1} vet	otter en nerts	Veilige waarde Kritische waarde Beschadiging reproductie	Leonards *et al*., 1994; Smit *et al*., 1996
PCB - DDE	DDE: 1,8 tot 4,6 mg g^{-1} BW	visdiefje	Afgenomen broed	Nisbet & Reynolds, 1984
ΣPCB	1000 ng g^{-1} bw (lever) (NOEL)	Arctische zalmforel	EROD-inductie	Jørgensen *et al*., 1999
	2300 ng g^{-1} bw in eitjes (NOEL)	Forsters stern	broedsucces	Bosveld & van den Berg, 1994
	3500 ng g^{-1} bw in eitjes (NOEL)	geoorde aalscholver	mortaliteit in de eitjes	Giesy *et al*., 1994b; Barron *et al*., 1995
	1000 ng g^{-1} lw in bloed-serum (NOEL)	resusaap	visueel geheugen	Ahlborg *et al*., 1992
	500-1000 ng g^{-1} lw in bloedserum (NOEL)	resusaap	korte termijngeheugen	Ahlborg *et al*., 1992
	4000 ng g^{-1} lw in de lever (NOEL)	otter	vitamine A reductie	Murk *et al*., 1998
	11 000 ng g^{-1} lw in de lever (NOEL)	otter	vitamine A reductie	Murk *et al*., 1998
2,3,4,7,8-pentachloordibenzofu-raan 1,2,3,6,7,8-hexachloordibenzo-*p*-dioxine	1 tot 5 ng kg^{-1} range	alscholvers (*Phalacroco-rax carbo*), reigers (*Ardea cinerea*) en futen (*Podi-ceps crisatus*)	Zeer sterke bioaccumulatie van deze congeneren in de lever van de aalscholver	Van den Berg *et al*., 1987

dioxineachtige componenten	7,8 pg TEQ g^{-1} BW	zeehond	NOEC-waarde voor het dieet van de zeehond	Leonards *et al*., 2005
CB	50 mg CB kg^{-1} (BW)	nerts	Daling van 50% in de reproductie	Jensen *et al*., 1977
Aroclors 1242, 1245 en 1254	30 ppm van een mengsel (1:1:1)	otter	100% mortaliteit	Safe, 1984
Aroclor 1254	3,6 ppm	otter	100% mortaliteit	Safe, 1984
Aroclors 1232, 1242, 1248, 1254, 1260 en 1260	> 600 mg kg^{-1}		LC_{50} waarden voor verschillende vogelsoorten	Heath *et al*., 1972
Clophen A50	2 mg (12-14 weken)	nerts	Afname met 48% van vitamine A waarde van de lever	Brunström *et al*., 1991
DDT	< 1 tot 28 µg g^{-1} BW	vogels	Dodelijk	Blus, 1996, Fide: Mora & Wainwright, 1998
ΣDDT	3000 ng g^{-1} bw (NOEL)	Amerikaanse zeearend	reproductie	Wiemeyer *et al*., 1984
DDE	0,1 tot > 60 µg g^{-1} BW	vogels	Verdunning eischaal	Blus, 1996, Fide: Mora & Wainwright, 1998
Pb	2 mg g^{-1}	visdiefje	Kleinere gewichtstoename Beïnvloeding verscheidene gedragspatronen	Burger & Gochfeld, 1985
	0,80 mg g^{-1}		Maximaal getolereerde dosis	
	1,0 mg g^{-1} (1000 mg kg^{-1}		LD_{50} waarde	Burger & Gochfeld, 1988
	1,2 mg g^{-1} (1200 $mgkg^{-1}$)		100% mortaliteit	
TEQ	4,6 pg TEQ g^{-1} bw in eitjes (NOEL)	aalscholver	reproductie	Giesy *et al*., 1994b
	20 pg TEQ g-1 (NOEL)	Carolina eend	reproductieve effecten	Giesy *et al*., 1994b
	10 pg TEQ g^{-1} bw in eitjes (NOEL)	zilvermeeuw	reproductie	Giesy *et al*., 1994b
	200 pg TEQ bw^{-1} in eitjes	Amerikaanse zeearend	reproductie	Elliot *et al*., 1996

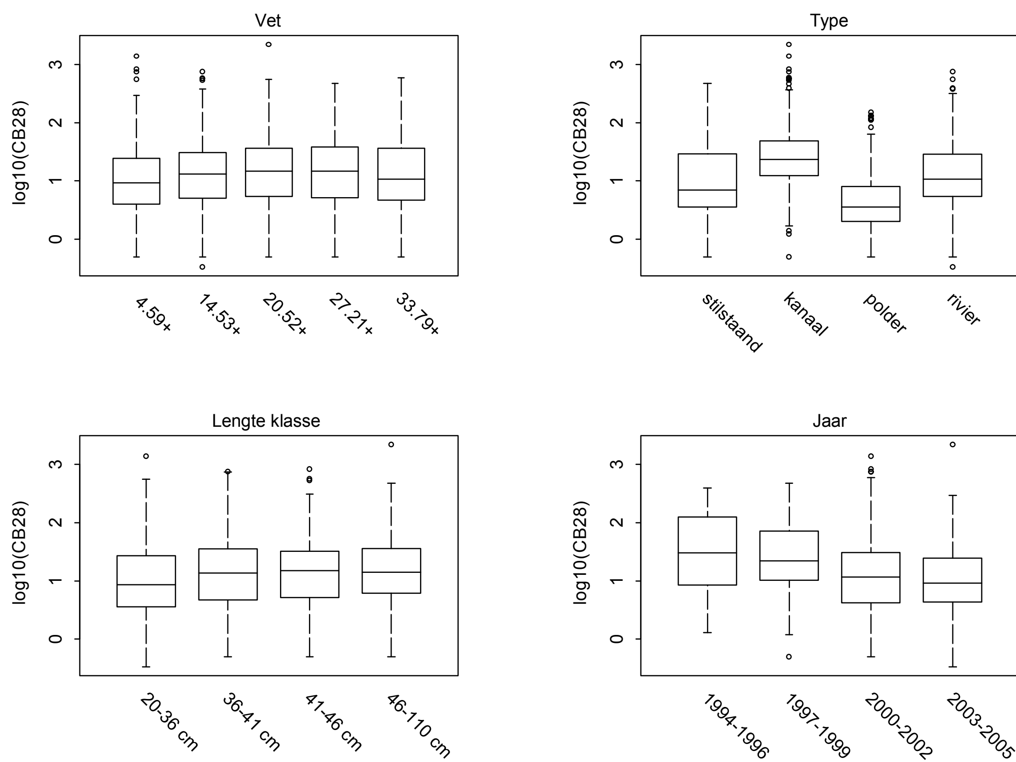
(NOEL)			
100 pg TEQ g^{-1} bw in eitjes (NOEL)	Amerikaanse zeearend	cytochroom P450 1A inductie	Elliot *et al*., 1996
2000 pg TEQ g^{-1} lw in de lever (NOEL	otter	vitamine A reductie	Murk *et al*., 1998
210 pg TEQ g^{-1} lw in spek (NOEL	zeehonden	immunosuppressie	Ross *et al*., 1995

Bijlage 2

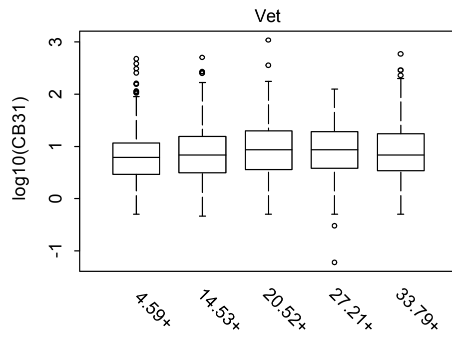
De relatie van de lichaamsvracht met vet, jaar, seizoen en type voor de verschillende polluenten afzonderlijk.

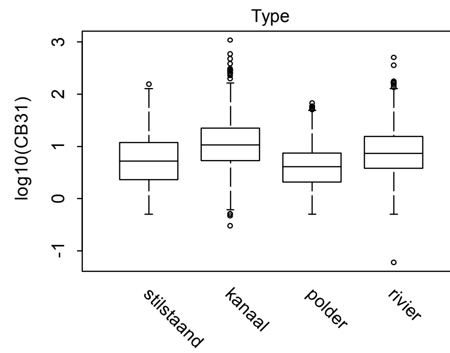
PCB's

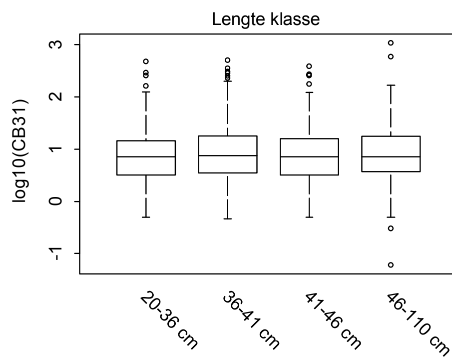
CB28 [2400]

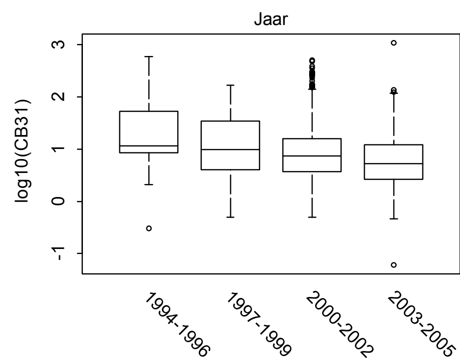


CB31 [2400]

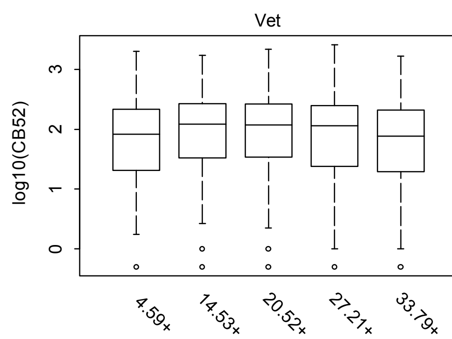


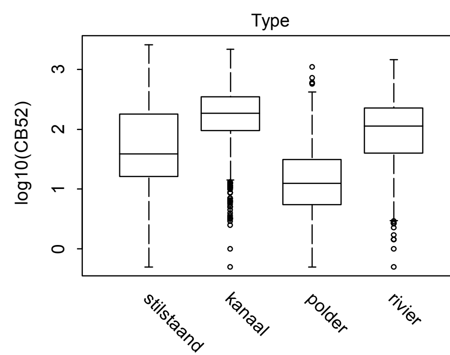


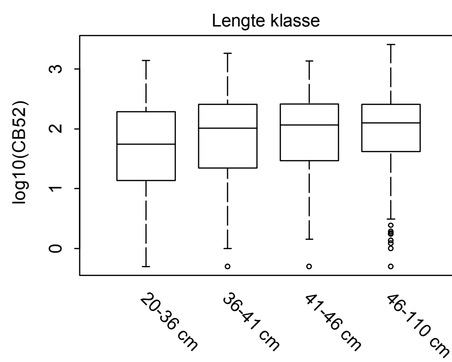


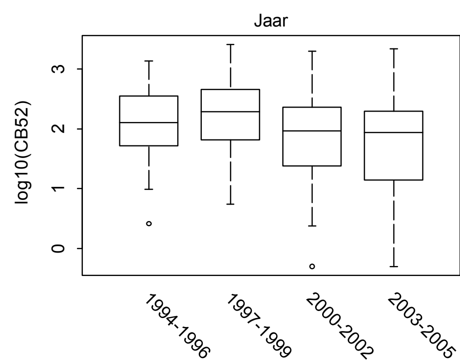


CB52 [2400]

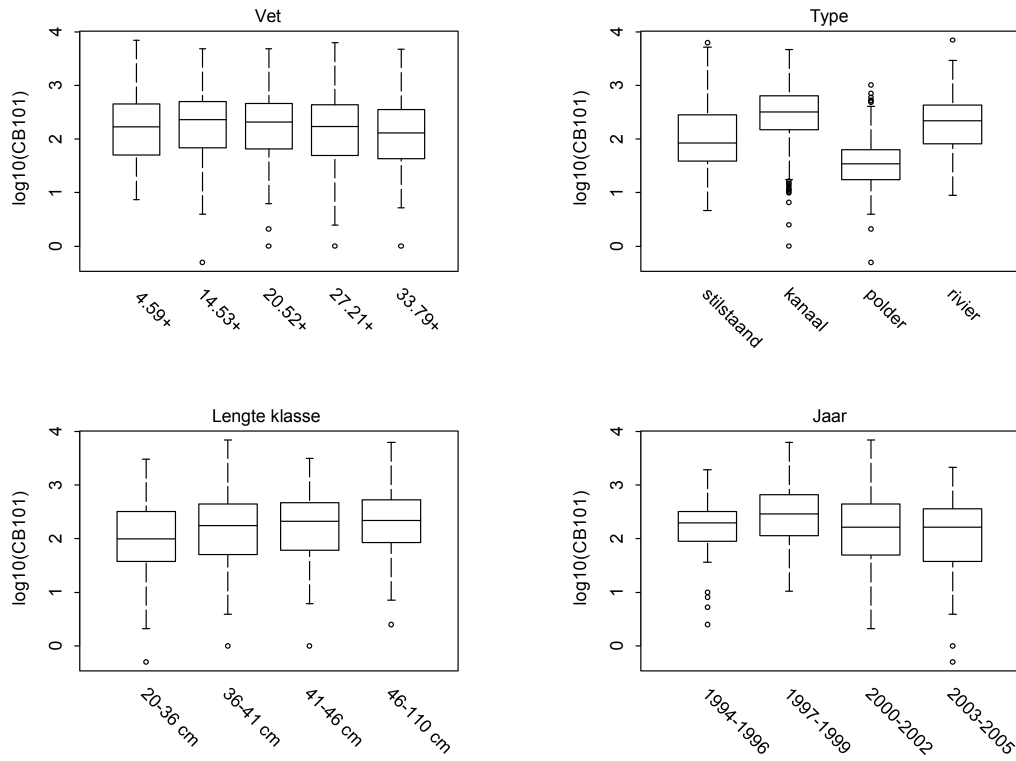




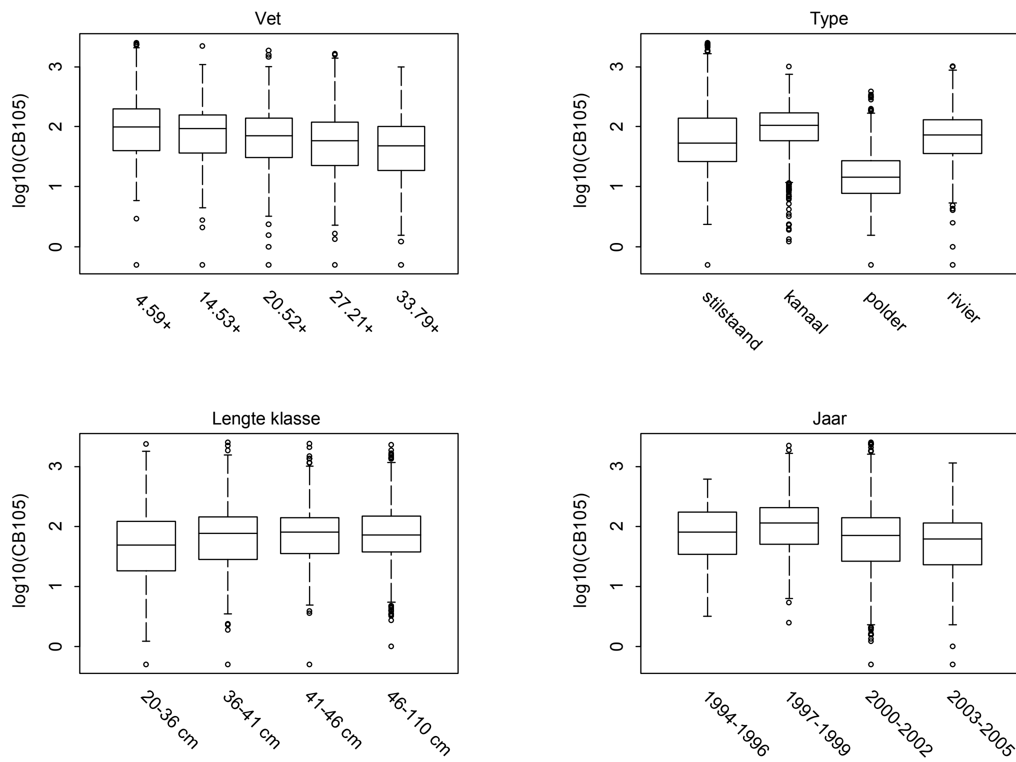




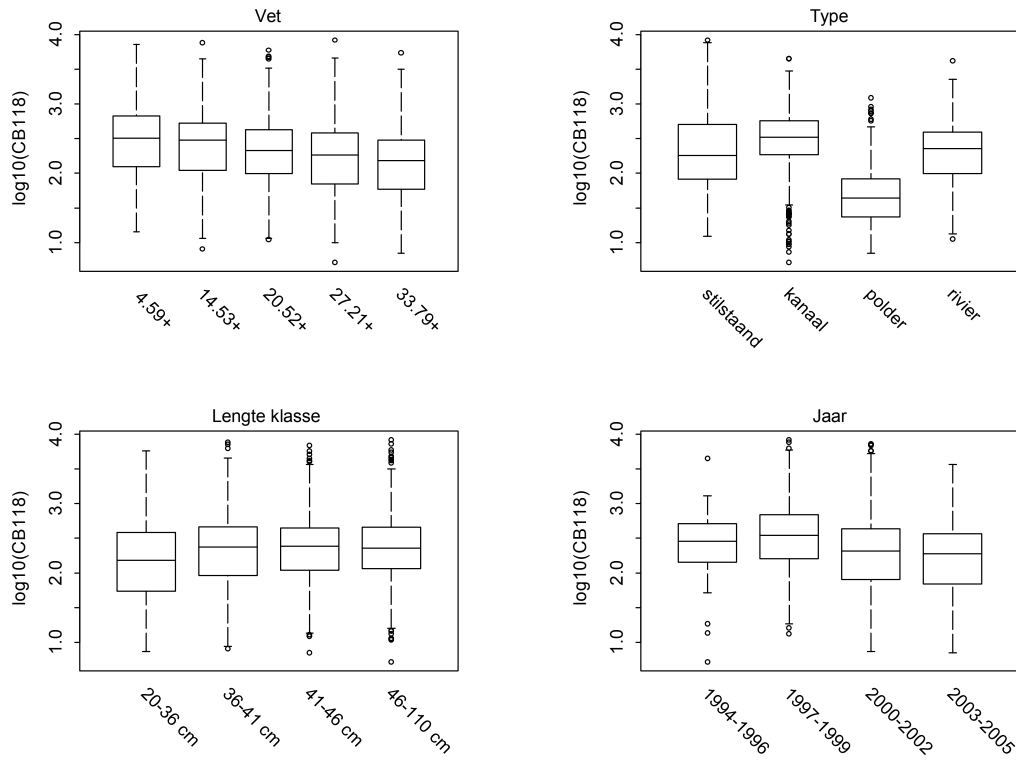
CB101 [2400]



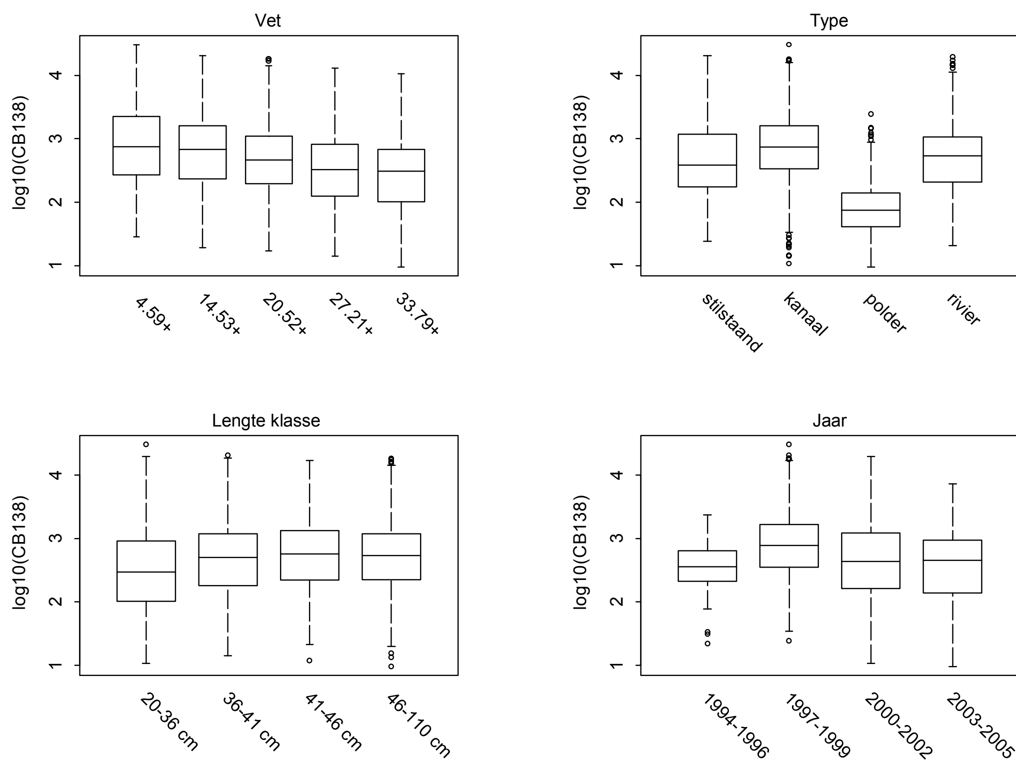
CB105 [2400]

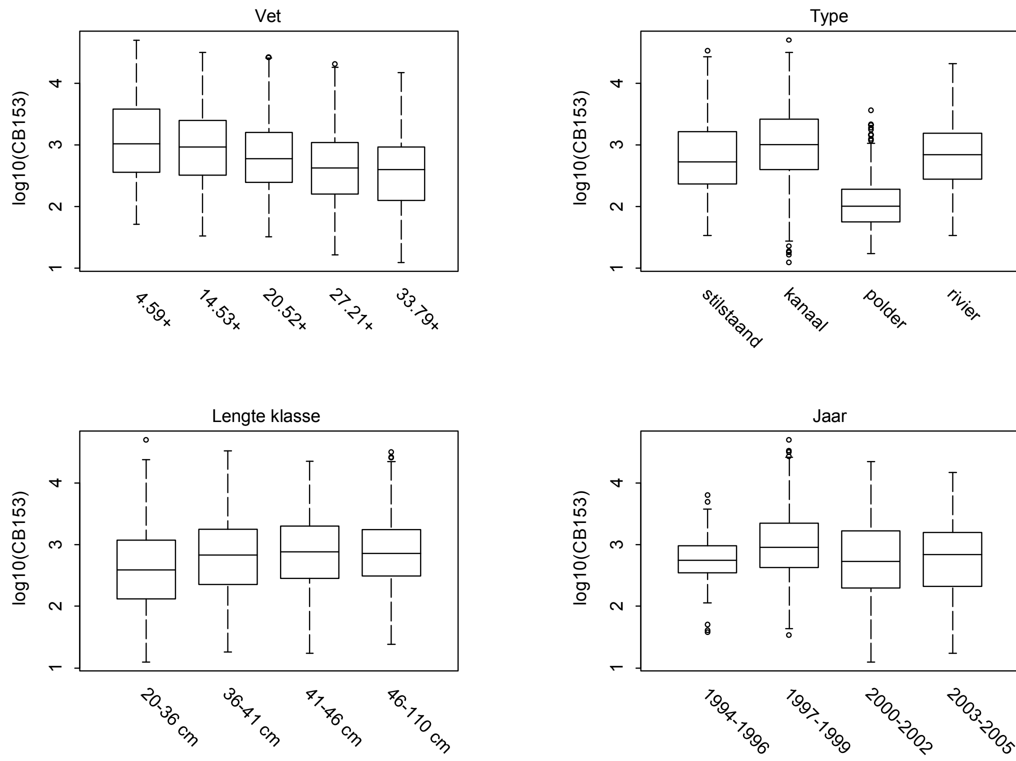


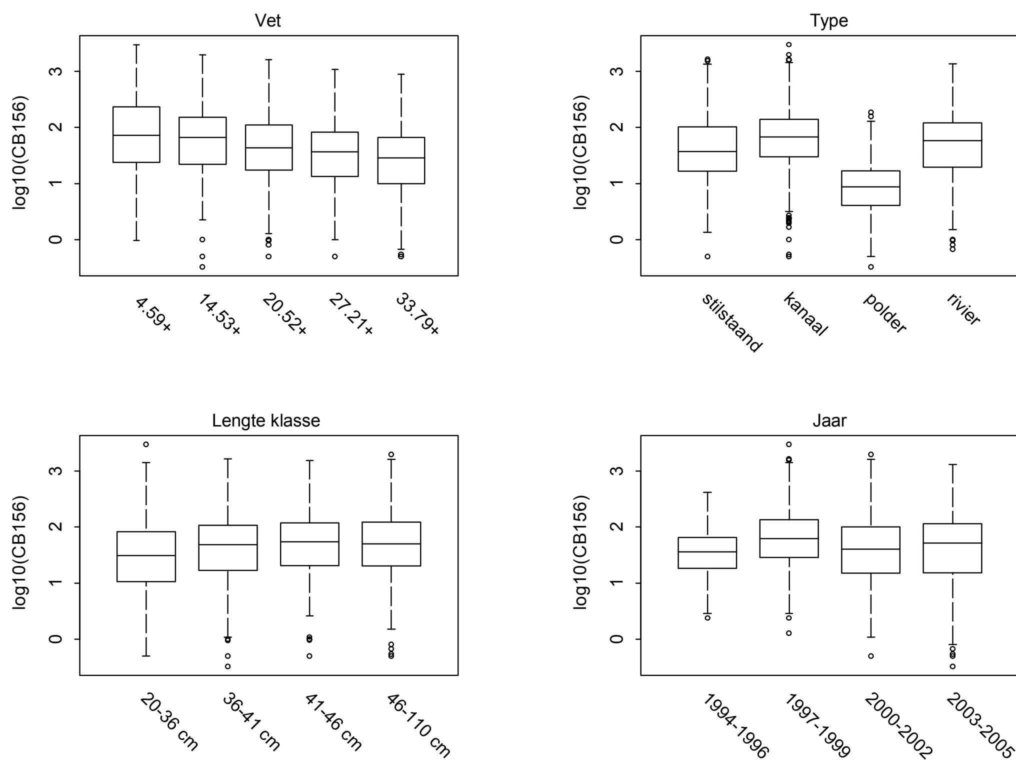
CB118 [2400]



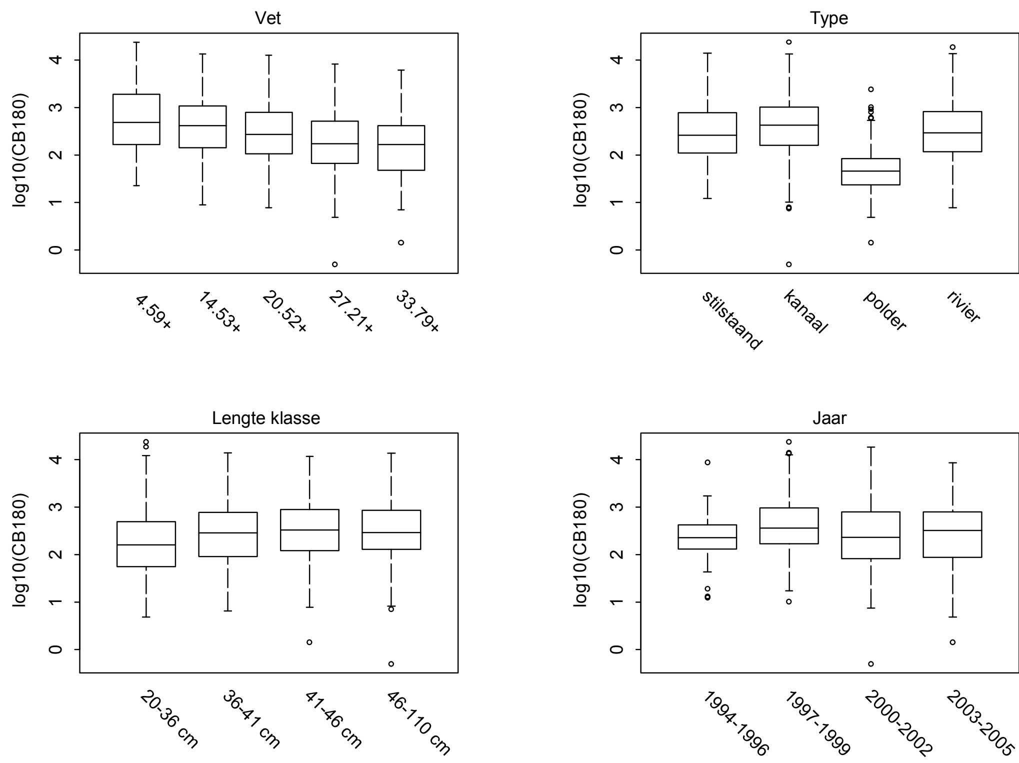
CB138 [2400]




CB153 [2400]
Vet
log10(CB153)
4.59+
14.53+
20.52+
27.21+
33.79+
Type
stilstaand
kanaal
polder
rivier
Lengte klasse
20-36 cm
36-41 cm
41-46 cm
46-110 cm
Jaar
1994-1996
1997-1999
2000-2002
2003-2005


CB156 [2400]
Vet
log10(CB156)
4.59+
14.53+
20.52+
27.21+
33.79+
Type
stilstaand
kanaal
polder
rivier
Lengte klasse
20-36 cm
36-41 cm
41-46 cm
46-110 cm
Jaar
1994-1996
1997-1999
2000-2002
2003-2005

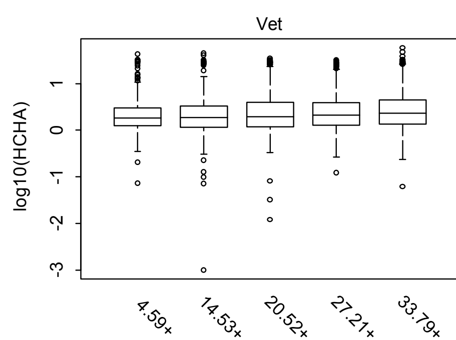
CB180 [2400]

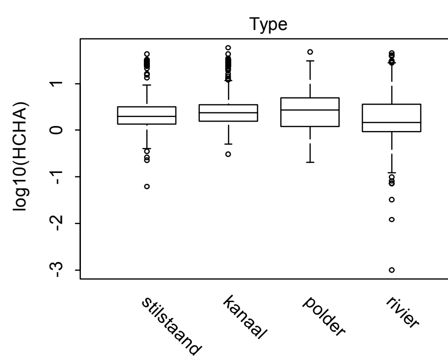


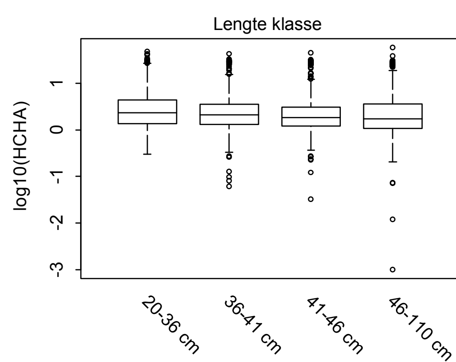
Vet
log10(CB180)
0
1
2
3
4
4.59+
14.53+
20.52+
27.21+
33.79+
Type
log10(CB180)
stilstaand
kanaal
polder
rivier
Lengte klasse
log10(CB180)
20-36 cm
36-41 cm
41-46 cm
46-110 cm
Jaar
log10(CB180)
1994-1996
1997-1999
2000-2002
2003-2005

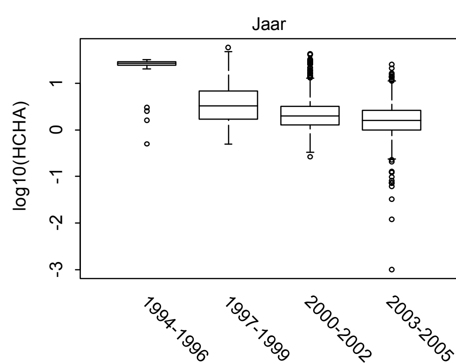
PESTICIDEN

HCHA [2400]

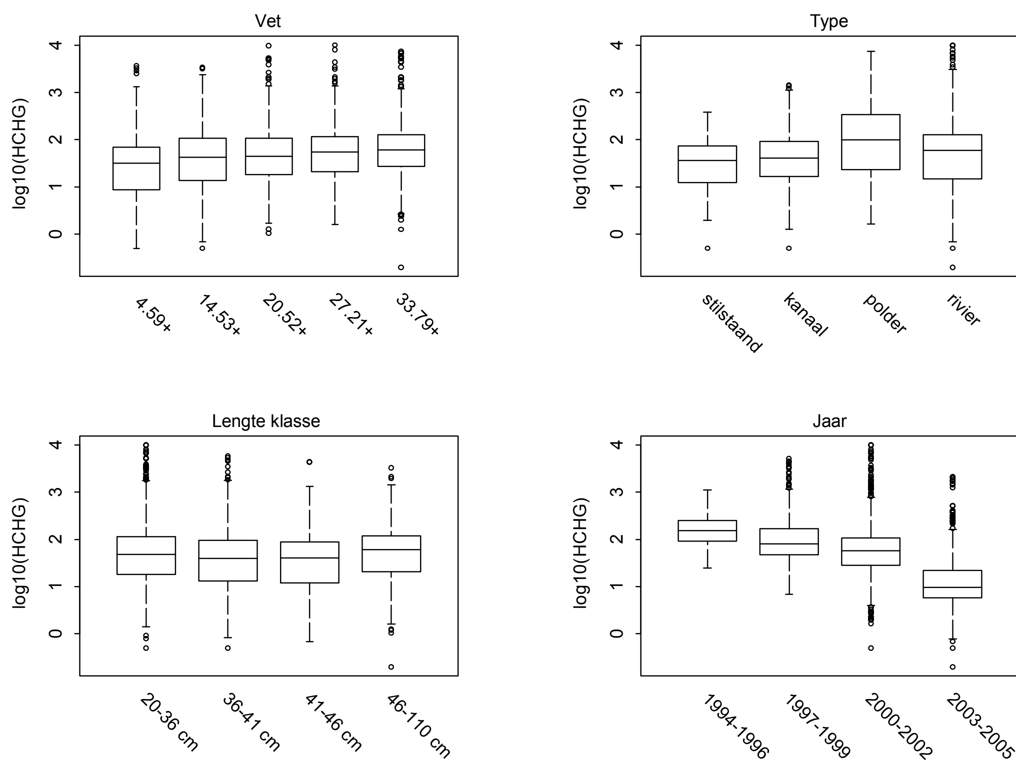




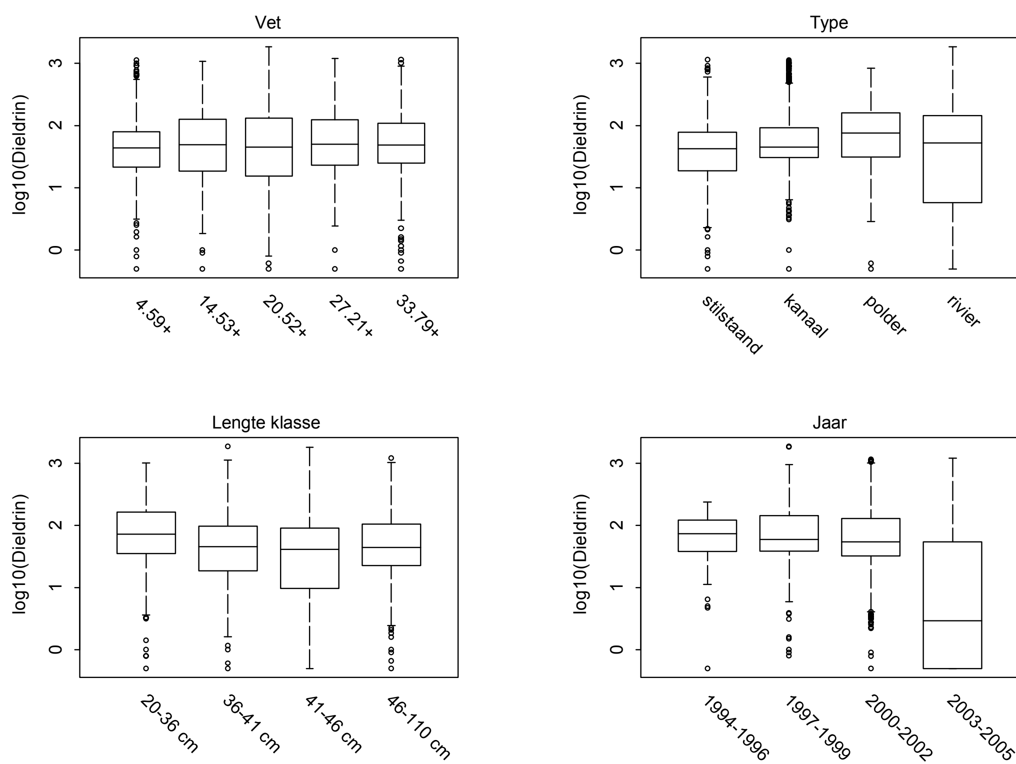


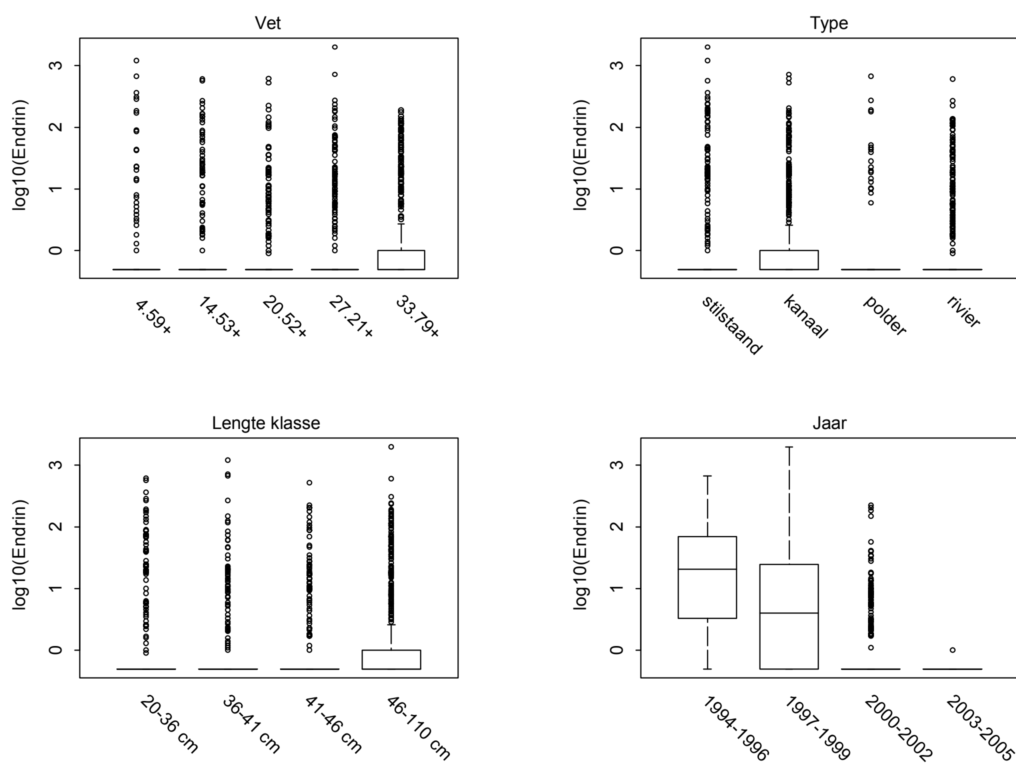


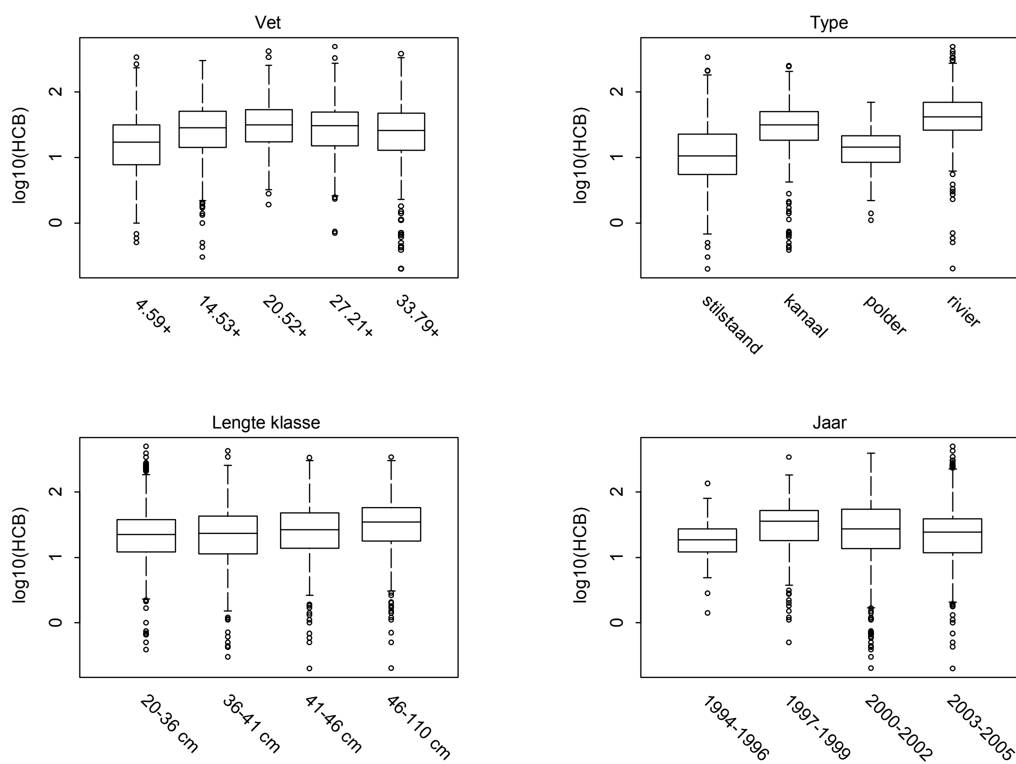
HCHG [2400]

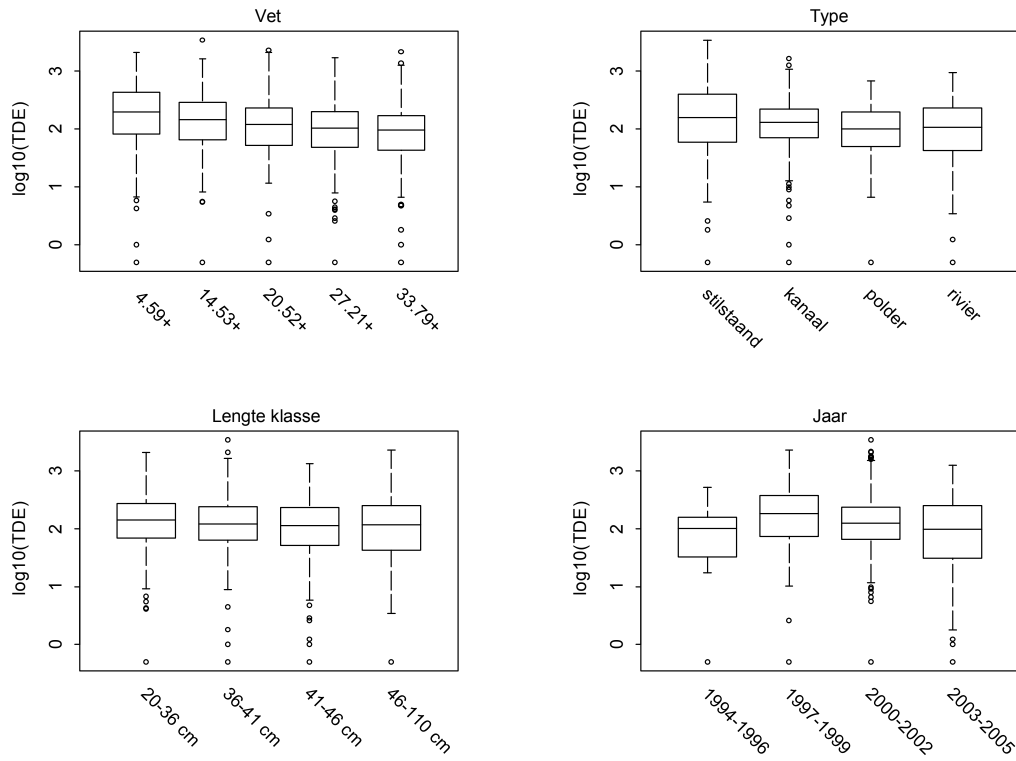


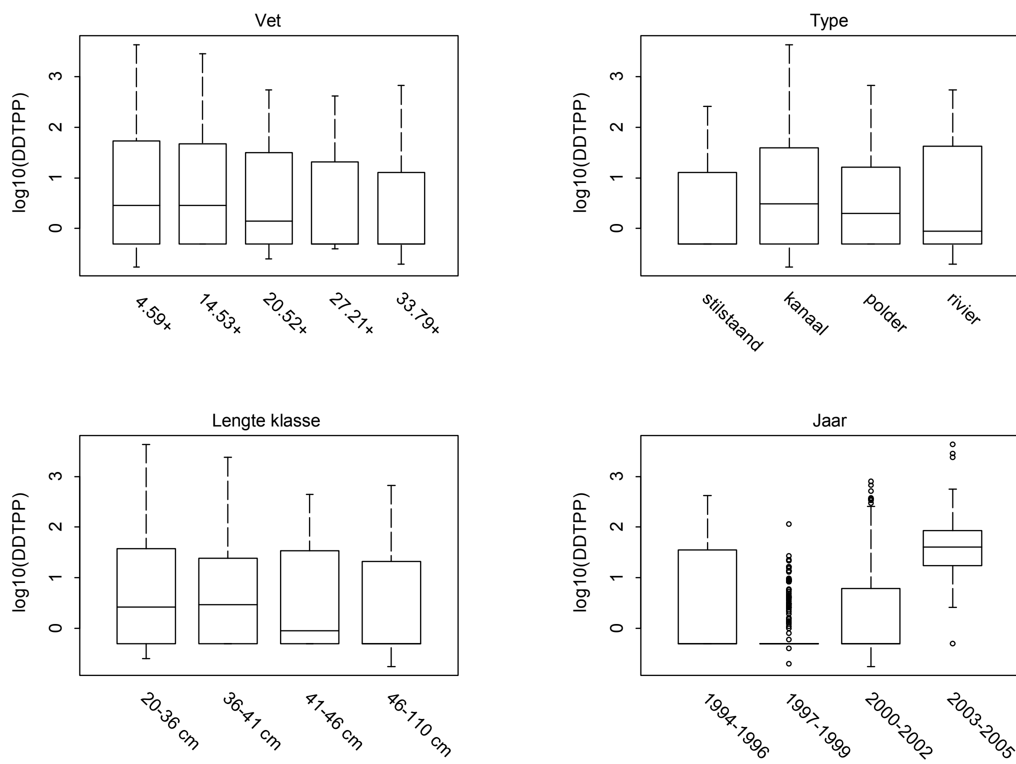
Dieldrin [2400]



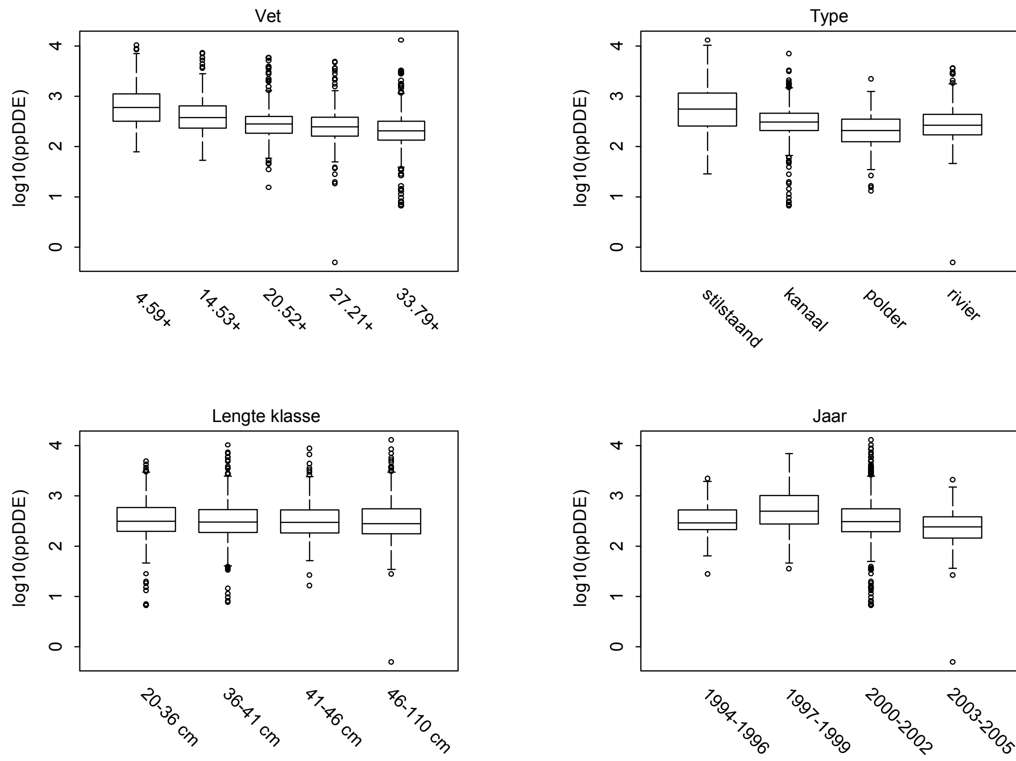

Endrin [2400]
Vet
log10(Endrin)
4.59+
14.53+
20.52+
27.21+
33.79+
Type
stilstaand
kanaal
polder
rivier
Lengte klasse
20-36 cm
36-41 cm
41-46 cm
46-110 cm
Jaar
1994-1996
1997-1999
2000-2002
2003-2005


HCB [2400]
Vet
log10(HCB)
4.59+
14.53+
20.52+
27.21+
33.79+
Type
stilstaand
kanaal
polder
rivier
Lengte klasse
20-36 cm
36-41 cm
41-46 cm
46-110 cm
Jaar
1994-1996
1997-1999
2000-2002
2003-2005

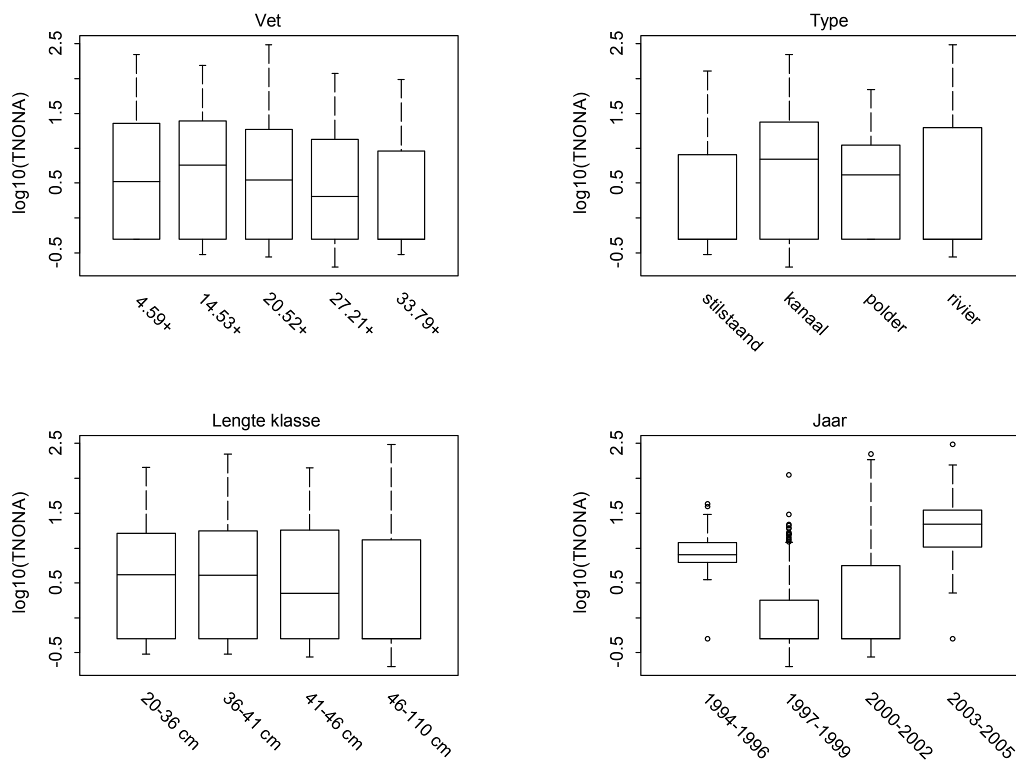

TDE [2400]
Vet
log10(TDE)
4.59+
14.53+
20.52+
27.21+
33.79+
Type
stilstaand
kanaal
polder
rivier
Lengte klasse
20-36 cm
36-41 cm
41-46 cm
46-110 cm
Jaar
1994-1996
1997-1999
2000-2002
2003-2005


DDTPP [2400]
Vet
log10(DDTPP)
4.59+
14.53+
20.52+
27.21+
33.79+
Type
stilstaand
kanaal
polder
rivier
Lengte klasse
20-36 cm
36-41 cm
41-46 cm
46-110 cm
Jaar
1994-1996
1997-1999
2000-2002
2003-2005

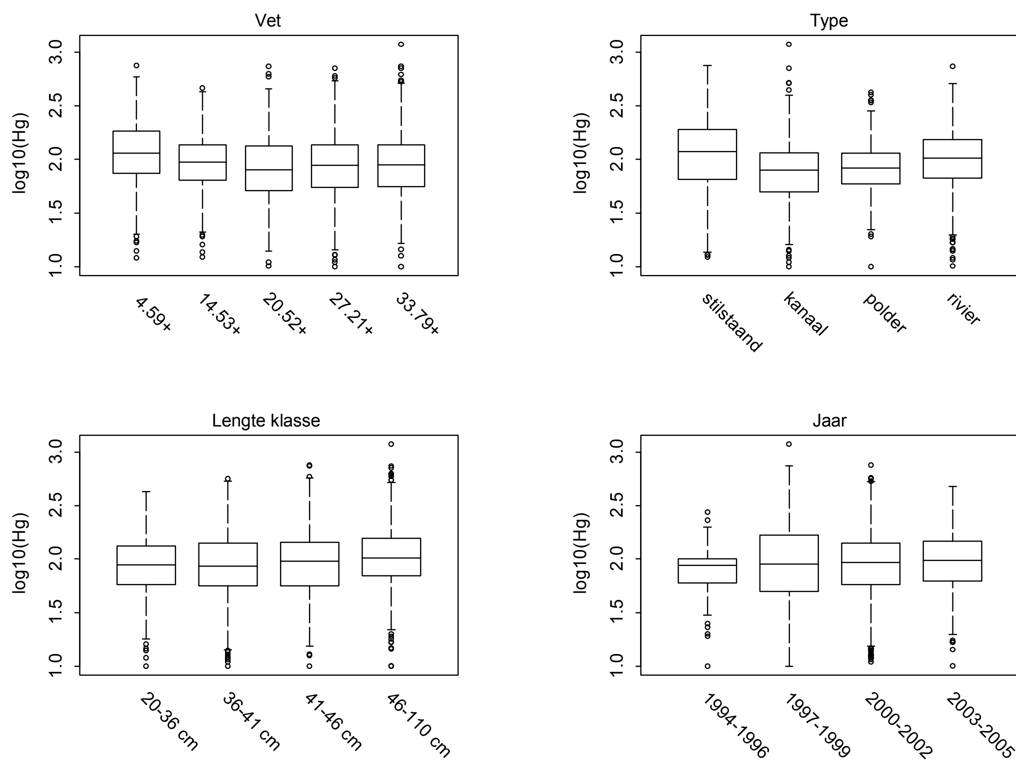
ppDDE [2400]

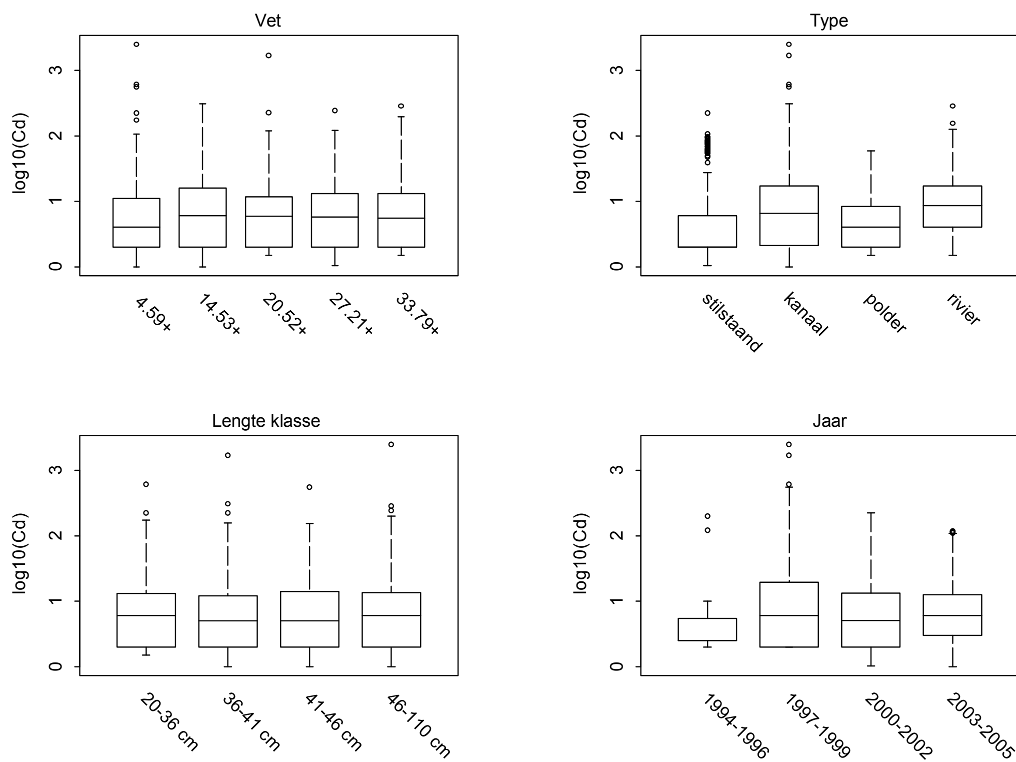


TNONA [2400]

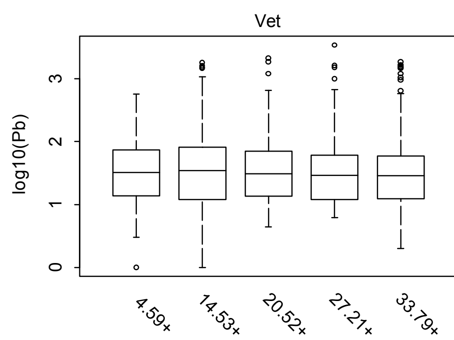


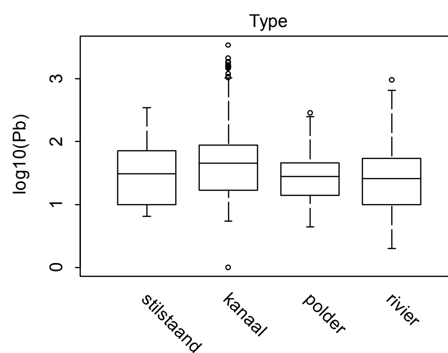
ZWARE METALEN

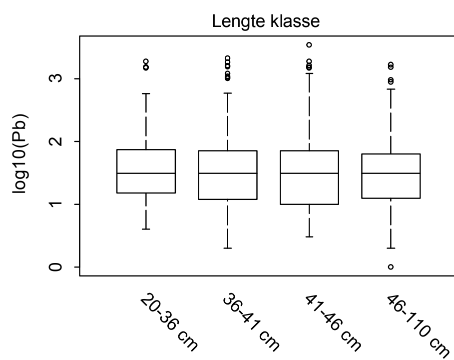


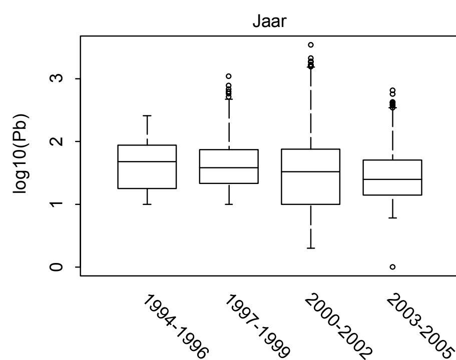


Pb [2400]

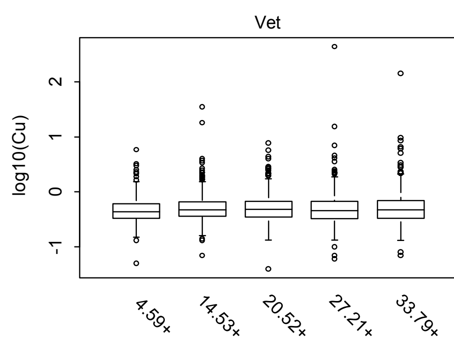


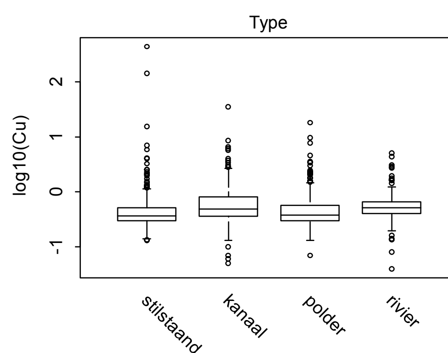


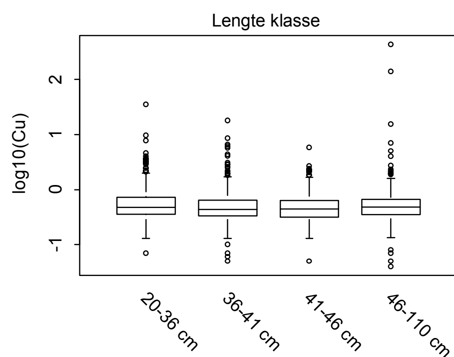


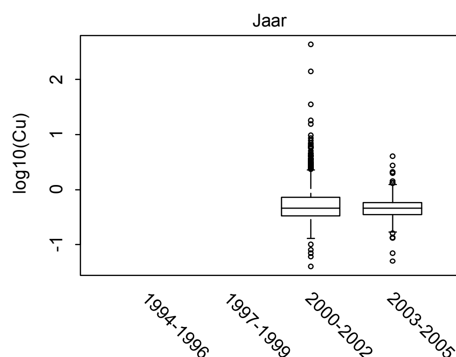


Cu [1990]

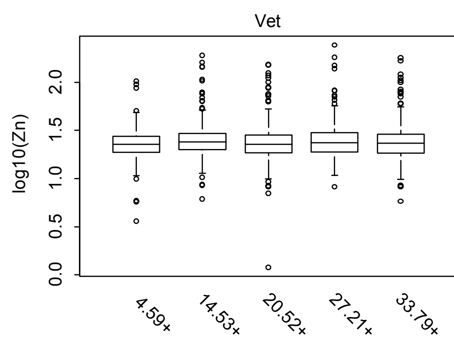


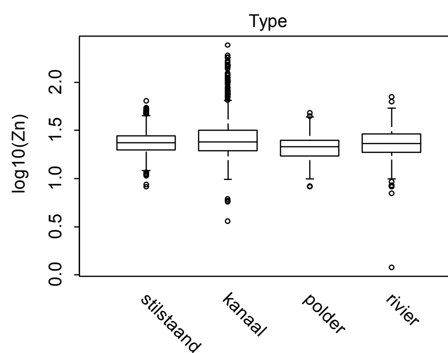


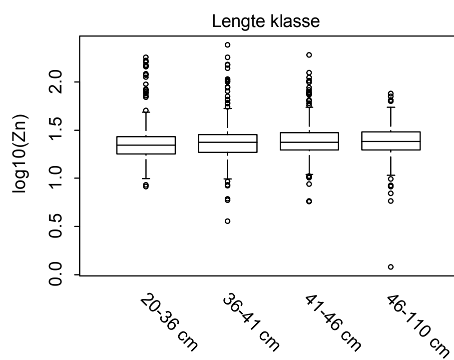


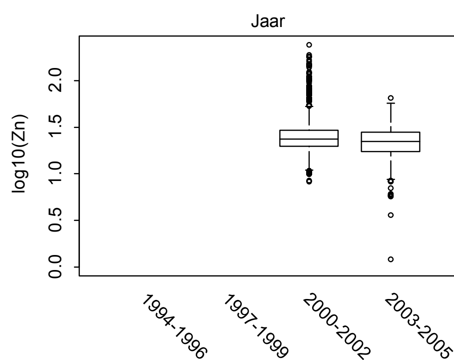


Zn [1990]

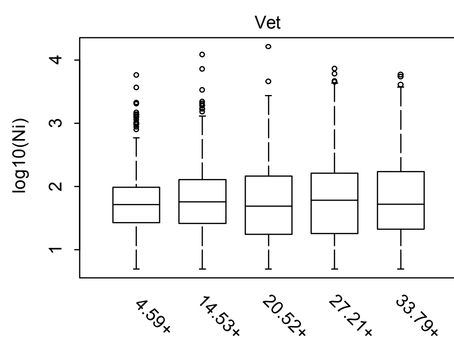


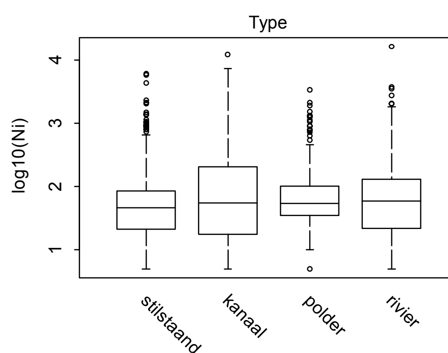


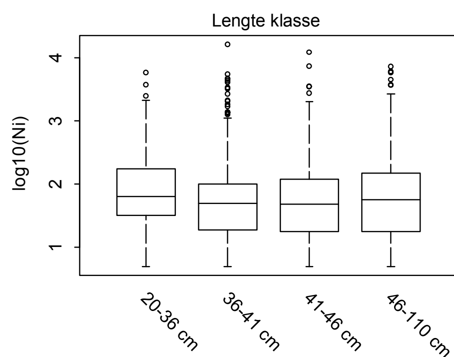


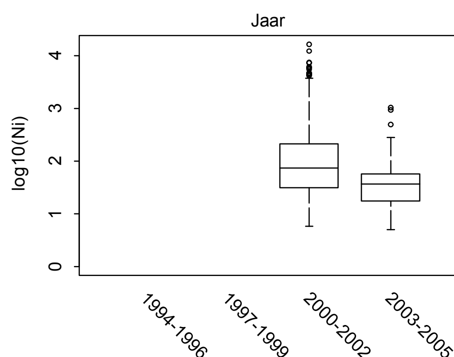


Ni [1990]

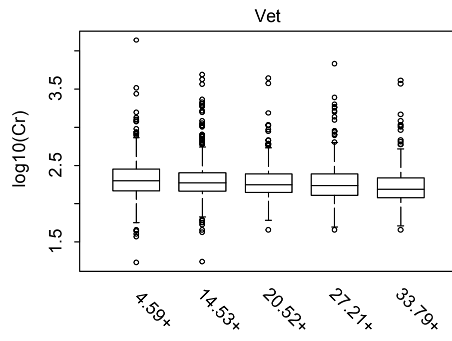


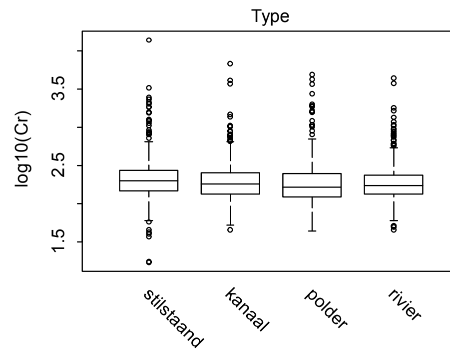


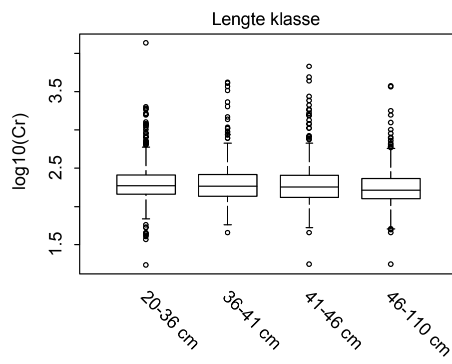


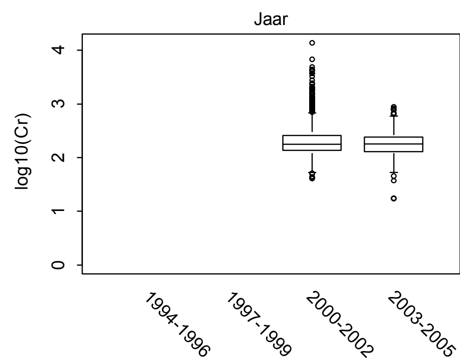


Cr [1990]

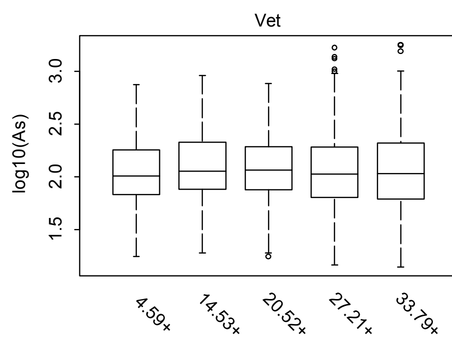


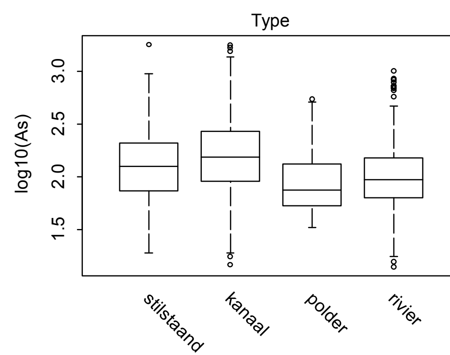


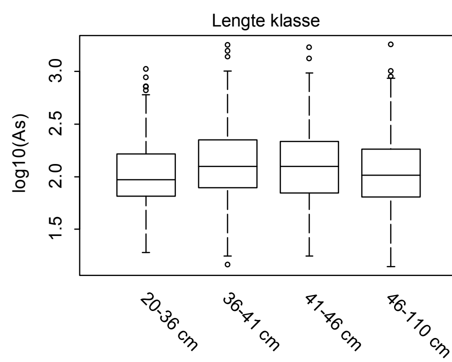


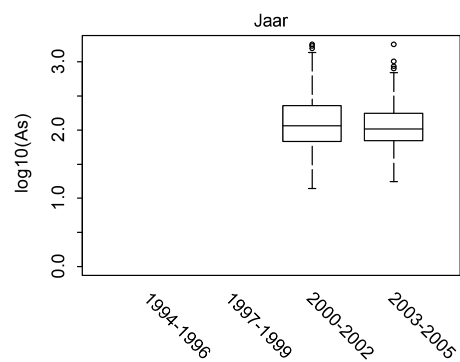


As [1362]

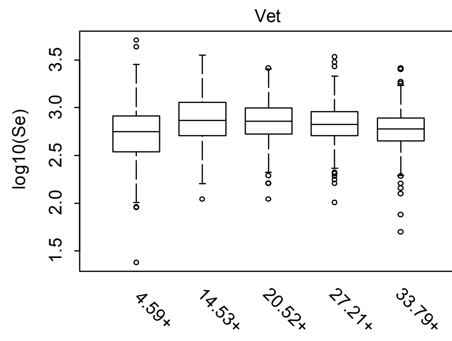


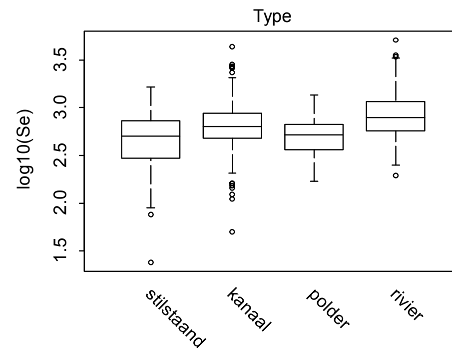


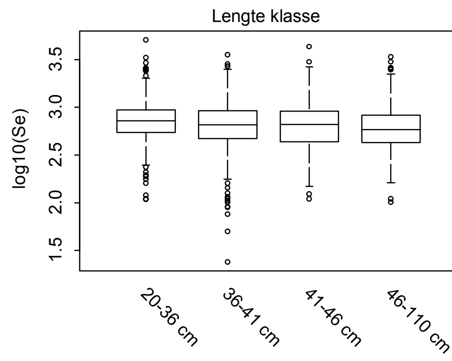


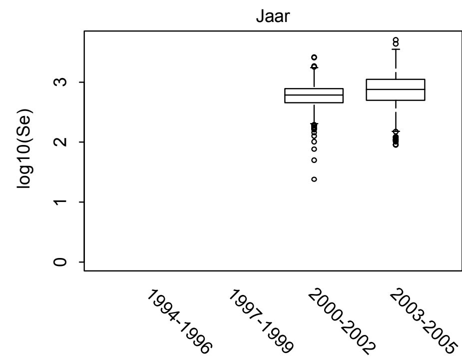


Se [1362]


Vet
log10(Se)
1.5
2.0
2.5
3.0
3.5
4.59+
14.53+
20.52+
27.21+
33.79+


Type
log10(Se)
1.5
2.0
2.5
3.0
3.5
stilstaand
kanaal
polder
rivier


Lengte klasse
log10(Se)
1.5
2.0
2.5
3.0
3.5
20-36 cm
36-41 cm
41-46 cm
46-110 cm


Jaar
log10(Se)
0
1
2
3
1994-1996
1997-1999
2000-2002
2003-2005